

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KAJA VENE

MAGISTRSKA NALOGA

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KAJA VENE

**VPLIV IN VITRO SIMULIRANIH INDIVIDUALNIH PROFILOV pH
IN PUFRSKIH KAPACITET PREBAVNEGA TRAKTA NA
SPROŠČANJE NATRIJEVEGA DIKLOFENAKATA**

**THE INFLUENCE OF IN VITRO SIMULATED INDIVIDUAL pH
PROFILES AND BUFFER CAPACITIES OF GASTROINTESTINAL
TRACT ON DICLOFENAC SODIUM DISSOLUTION**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Magistrsko naložko sem opravljala na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag.farm.

Zahvala

Zahvaljujem se prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi magistrske naloge. Zahvaljujem se tudi Tjaši Felicijan, mag. farm. za vso pomoč in nasvete pri delu ter Greti Cof, dipl. ing. kem. teh. za prijetno vzdušje in pomoč v laboratoriju. Prav tako bi se zahvalila fantu Dominiku, družini in prijateljem za vso pomoč in podporo pri študiju.

Komisija za zagovor

Predsednik: prof. dr. Danijel Kikelj, mag. farm.

Mentorica: prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm.

Član: asist. dr. Tilen Kranjc, mag. farm.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko naložko izdelala samostojno pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Kaja Vene

Kazalo vsebine

1	Uvod	1
1.1	Sproščanje iz trdnih farmacevtskih oblik.....	1
1.2	Mediji za sproščanje	1
1.2.1	Mediji predpisani v Evropski farmakopeji	2
1.2.2	Biorelevantni mediji	3
1.2.3	Vpliv pH medija na sproščanje ZU	5
1.3	Splošne lastnosti natrijevega diklofenakata in študije, kjer je bil uporabljen.....	6
2	Namen dela.....	11
3	Materiali in metode	12
3.1	Materiali, aparature in laboratorijska oprema.....	12
3.1.1	Materiali	12
3.1.2	Aparature in laboratorijska oprema	12
3.2	Priprava raztopin	15
3.2.1	McIlvainovi pufri.....	16
3.3	Metode	16
3.3.1	Izbira <i>in vivo</i> profilov pH in njihova obdelava.....	16
3.3.2	Pretočni sistem.....	17
3.3.3	Praktična izvedba simulacije profila pH.....	17
3.3.4	Simulacija visokega profila	20
3.3.5	Simulacija nizkega profila	21
3.3.6	Simulacija srednjega profila	23
3.3.7	Pufrska kapaciteta.....	25
3.3.8	Umeritvene premice za določanje koncentracije sproščenega Na-DF	26
3.3.9	Izdelava tablet.....	27
3.3.10	Poskusi sproščanja.....	27
4	Rezultati	30
4.1	Simulacija profilov pH.....	30
4.1.1	Visok profil.....	30
4.1.2	Nizek profil.....	33
4.1.3	Srednji profil.....	36
4.2	Pufrska kapaciteta	39

4.2.1	Visok profil.....	39
4.2.2	Nizek profil.....	41
4.2.3	Srednji profil.....	42
4.3	Umeritvene premice.....	43
4.4	Poskusi sproščanja	44
4.4.1	Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo visok profil pH	44
4.4.2	Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo nizek profil pH	45
4.4.3	Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo srednji profil pH.....	46
5	Razprava.....	47
5.1	Simulacija profilov pH.....	48
5.1.1	Visok profil pH.....	48
5.1.2	Nizek profil pH.....	51
5.1.3	Srednji profil pH.....	54
5.2	Pufrska kapaciteta	56
5.3	Poskusi sproščanja	58
5.3.1	Ponovljivost poskusov sproščanja	58
5.3.2	Primerjava sproščanj med profili.....	59
6	Sklep.....	62
7	Viri	63

Povzetek:

Simulirali smo tri profile pH skozi celotni gastrointestinalni trakt na osnovi *in vivo* literaturnih vrednosti, pri pogojih na tešče. *In vivo* podatki so zajemali vrednosti pH v odvisnosti od časa nahajanja kapsule v gastrointestinalnem traktu, s pomočjo katere so merili vrednosti pH. Simulacije profilov pH in sproščanja smo izvajali na pretočnem sistemu, v delovni čaši s steklenimi kroglicami, ki so simulirale gibanje v gastrointestinalnem traktu. Vsi poskusi so se izvajali pod enakimi pogoji; volumen medija v čaši je bil 40 ml, medij se je mešal s hitrostjo 50 rpm, količina steklenih kroglic je bila 25,0 g. Vzdrževali smo konstantno temperaturo 37 °C, pretok skozi dovodne in odvodne cevke, je bil 2 ml/min. Tekom simulacije smo z ustreznim redčitvijo medijev zagotavljali ustreznost pufrske kapacitete, v tankem črevesu je bila med 4 in 8 mmol/l/ΔpH in v kolonu približno 15 mmol/l/ΔpH. Uspešno smo simulirali vse tri profile pH in se približali *in vivo* literaturnim profilom. Profili pH so se med seboj razlikovali v časih zadrževanja v želodcu in v tankem črevesju ter v vrednostih pH. Želeli smo preučiti vpliv razlik med profili pH na rezultate sproščanja. Sproščanje smo izvajali z uporabo dveh vrst tablet, ki so vsebovale 100 mg natrijevega diklofenakata. Razlikovali sta se v sestavi pomožnih snovi, tablete H so vsebovale 75% hidroksipropil metilceluloze, tablete HL pa 39,5% laktoze monohidrata in 35% hidroksipropil metilceluloze. Pri tabletah H so se pojavljale razlike med paralelkami, saj je prihajalo do lebdenja tablete. Sproščanje zdravilne učinkovine iz tablet HL poteka v veliko večjem obsegu, kot pri tabletah H, razlog je v različni sestavi tablete. pH medija ima velik vpliv na sproščanje natrijevega diklofenakata. Najmanj natrijevega diklofenakata se sprosti v kislem, % sproščenega narašča z višanjem vrednosti pH. Razlike med simuliranimi profili pH vplivajo na rezultate poskusov sproščanja. Po menjavi kislega medija z medijem z višjim pH se pri profilu, kjer je simuliran daljši čas zadrževanja v želodcu, natrijev diklofenakat začne sproščati kasneje kot pri profilu, kjer je simulirano krajše zadrževanje v kislem mediju. V območju tankega črevesja se je sprostilo največ natrijevega diklofenakata pri tistem profilu, kjer so bile dosežene najvišje vrednosti pH. Padec pH v kolonu zmanjša hitrost sproščanja, še posebno pri profilu pH, kjer se doseže najnižja vrednost pH v kolonu in se zmanjšanje hitrosti sproščanja opazi kot lom krivulje.

Ključne besede: profili pH skozi gastrointestinalni trakt, pufrska kapaciteta, sproščanje natrijevega diklofenakata, McIlvainovi pufri.

Abstract:

We simulated three pH profiles of the entire gastrointestinal tract based on *in vivo* values under fasting conditions. The *in vivo* data included pH values in relation to the time the capsule was retained in the gastrointestinal tract by the means of which the pH was measured. Simulations of the pH profile and release were performed on a flow-through system in a beaker with glass beads that simulated the movement in the gastrointestinal tract. All experiments were carried out under the same conditions; the volume of the media in the beaker was 40 ml, the media was stirred at a speed of 50 rpm, the amount of glass beads was 25.0 g. A constant temperature of 37 °C was maintained, the flow through the inlet and outlet tubes was 2 ml/min. During the simulation, the appropriate dilution of the media which were pumped in the working vessel ensured the suitability of the buffer capacity which was between 4 and 8 mmol/l/ΔpH in the small intestines and approximately 15 mmol/l/ΔpH in the colon. We successfully simulated all three pH profiles and approached the *in vivo* profiles described in literature. pH profiles differed from each other in retention times, in the stomach and in the small intestine, and in pH values. We wanted to study the effect of the differences between pH profiles on drug release results. Drug release was performed using two types of tablets containing 100 mg diclofenac sodium. They differed in the composition of excipients; H tablets contained 75% of hydroxypropyl methylcellulose, while HL tablets contained 39.5% of lactose monohydrate and 35% of hydroxypropyl methylcellulose. High variability in drug release appeared for H tablets because the tablet was floating. The release of the drug from HL tablets is greater than from tablets H, due to the different composition of the tablet. pH of media has a strong effect on the release of diclofenac sodium. It is released the least in an acidic environment, and the percentage of released diclofenac sodium increases by increasing the pH value. The differences between simulated pH profiles affected the results of the release experiments. After changing the acidic medium with a medium with a higher pH value diclofenac sodium release occurs later in the case of the profile with a long-term retention time in the stomach compared to the pH profile with shorter stomach retention time. In the small intestine area, the largest amount of diclofenac sodium was released in a profile where the highest pH value was reached. The pH drop in the colon slows down the release rate especially in the profile with the lowest pH value, where decrease in the release rate is observed as a curve breaking.

Key words: pH profiles through the gastrointestinal tract, buffer capacity, diclofenac sodium release, McIlvaine buffers .

Okrajšave

- BCS – biofarmacevtska klasifikacija zdravil
- CAT – čas prehoda v cekum (*caecum arrival time*)
- FaSSGF – simuliran medij želodca v pogojih na tešče
- FeSSGF – simuliran medij želodca ob prisotnosti hrane
- FaSSIF – simuliran medij tankega črevesa v pogojih na tešče
- FeSSIF – simuliran medij tankega črevesa ob prisotnosti hrane
- FO – farmacevtska oblika
- GET – čas izpraznitve želodca (*gastric emptying time*)
- GIT – gastrointestinalni trakt
- HPMC – hidroksipropil metilceluloza
- IVIVC – *in vitro in vivo* korelacija
- McIlP – Mcilvainov pufer
- SCoF – simulirana tekočina v kolonu
- SGF – simuliran želodčni sok
- SGF_{sp} – simuliran želodčni sok, brez vsebnosti pepsina
- SIF – simuliran črevesni sok
- SIF_{sp} – simuliran črevesni sok, brez vsebnosti pankreatina
- PAS – površinsko aktivna snov
- PS – pomožna snov
- RSD – relativna standardna deviacija
- rpm – obrati na minuto (*revolutions per minute*)
- TČ – tanko črevo
- ZU – zdravilna učinkovina

1 Uvod

1.1 Sproščanje iz trdnih farmacevtskih oblik

Testi sproščanja so *in vitro* metode, s katerimi napovemo sproščanje zdravilne učinkovine (ZU) iz farmacevtske oblike (FO). Sproščanje se uporablja za kontrolo kakovosti, pri razvoju zdravila za ustrezno izbrano sestavo zdravila, za oceno stabilnosti zdravila, za izvajanje *in vitro – in vivo* korelacije (IVIVC).

Na razlike v profilu sproščanja vplivajo sestava FO (vrsta in količina pomožne snovi (PS), velikost delcev ZU, pKa ZU, izdelava FO, mehanizem sproščanja FO) in izvedba testa sproščanja (aparatura za sproščanje, izbira in volumen medijev, hitrost mešanja).

1.2 Mediji za sproščanje

Z uporabo različnih medijev pri poskusih sproščanja želimo ugotoviti v kakšnem obsegu se sprošča ZU iz tablet pri različnih pogojih. Najpreprostejšo in njenostavnejšo obliko testa sproščanja predstavlja sproščanje, ki ima za medij uporabljeni vodo, vendar redko dobimo z vodo rezultate, s katerim se približamo *in vivo* vrednostim. Razlog za to je v različnih vrednosti pH, volumnu, osmolarnosti, vsebnosti encimov in površinsko aktivnih snovi (PAS) glede na želodčne in črevesne sokove, ki lahko imajo pomemben vpliv na potek sproščanja. Pogosto so kot mediji za sproščanje izbrani tudi različni pufri; fosfatni, maleatni, acetatni pufri, ki jih navaja Evropska farmakopeja, kjer je navedena njihova priprava, vrednosti pH. [1] Pufre lahko pripravimo z različnimi vrednostmi pH, njihova priprava pa je enostavna.

Tekočine v gastrointestinalnem traktu (GIT) vsebujejo žolčne soli, fosfolipide, encime, njihova količina je odvisna od prisotnosti oz. odsotnosti hrane znotraj GIT. S pripravo biorelevantnih medijev je cilj se približati *in vivo* pogojem, ki se ga doseže z ustrezno izbiro in količino sestavin, ki posnemajo tekočine pri *in vivo* pogojih. [2]

Vsaka ZU je uvrščena v BCS (Biofarmacevtska klasifikacija zdravil – *Biopharmaceutics Classification Scheme*) klasifikacijo, ki je predstavljena v preglednici I [3].

Preglednica I: Prikazana je BCS klasifikacija, ki deli zdravilne učinkovine v štiri razrede glede na njihovo topnost in permeabilnost. [3]

BCS KLASIFIKACIJA		TOPNOST	
PERMEABILNOST	Dobro permeabilna	Dobro topna	Slabo topna
		Razred 1 Dobro topna Dobro permeabilna	Razred 2 Slabo topna Dobro permeabilna
	Slabo permeabilna	Razred 3 Dobro topna Slabo permeabilna	Razred 4 Slabo topna Slabo permeabilna

Za ZU uvrščene v skupino 1 in 3 BCS klasifikacije so priporočljivi preprosti vodni mediji za sproščanje; simuliran želodčni sok (SGF) in simuliran črevesni sok (SIF), z encimi ali brez vsebnosti encimov (SGF_{sp} , SIF_{sp}). Za tiste učinkovine, ki so uvrščene v skupino 2 in 4 BCS klasifikacije pa so priporočljivi biorelevantni mediji. Pri substancah uvrščenih v skupino 2 je hitrost absorpcije odvisna od hitrosti razapljanja, zato je zelo pomembna pravilna izbira medijev za izvajanje *in vitro* testov sproščanja. [4]

1.2.1 Mediji predpisani v Evropski farmakopeji

Mediji, predpisani v farmakopeji so primerni za kontrolo kakovosti (QC), ampak niso vedno primerni za izvedbo IVIVC, ker s temi mediji ne moremo zagotavljati poleg pogojev na tešče tudi pogoje s hrano. [5]

1.2.1.1 Voda

Farmakopeja pogosto navaja vodo kot medij za sproščanje ZU (amoksicilin, fenofibrat, kofein), kljub temu, da izvajanje sproščanja v vodi ne predstavlja enakih pogojev kot so v GIT. Pri procesih sproščanja je voda pogosto uporabljena, vendar ni vedno primerna, ker:

- se kvaliteta vode razlikuje glede na vir vode,
- površinska napetost je lahko variabilna in odvisna od PS v sestavi tablete, [6]
- pH vode se lahko razlikuje, lahko pa se spremeni tekom poskusa (ob morebitnem razpadu FO, odvisno od vrste ZU in PS), saj voda nima pufrske kapacitete oz. je ta zelo nizka in se posledično ne more upirati sprememb pH. [6,7]

1.2.1.2 Simuliran želodčni sok (SGF)

SGF simulira pH tekočin v želodcu, na tešče, saj je njegova vrednost pH 1,2. Sestavljen je iz 80 ml 1 M HCl, 2 g NaCl, 3,2 g pepsina in prečiščene vode do 1000 ml [1]. V študijah [8,9] navajajo povprečne vrednosti pH v želodcu na tešče v območju 1,5 – 1,9, kar pa se razlikuje od zgoraj omenjene vrednosti pH 1,2. Pri učinkovinah, ki so šibke kisline in nevtralne spojine razlika v vrednostih pH nima bistvenega pomena na sproščanje, za slabo topne šibke baze pa lahko ima, ker se *in vitro* bolj poveča hitrost sproščanja kot pa se dejansko poveča pri *in vivo* pogojih. [10]

1.2.1.3 Simuliran črevesni sok (SIF)

Simuliran črevesni sok je pogosto uporabljen medij za posnemanje pogojev v tankem črevesju (TČ). Prvotna vrednost pH v mediju je bila 7,5, leta 1996 je bila vrednost spremenjena na pH 6,8, zaradi boljšega posnemanja vrednosti pH v proksimalnem delu TČ. Kasnejše študije meritev vrednosti pH vzdolž TČ, so pokazale, da se vrednosti pH zvišajo v distalnih delih TČ in da so vrednosti pH blizu 7,5 le v terminalnem delu TČ. [10]

Medij SIF je sestavljen iz 250 ml 0,2 M KH_2PO_4 , 77 ml 0,2 M NaOH, 10 g pankreatina in prečiščene vode do 1000 ml [1]. Različica medija SIF je medij SIF_{sp} , ki ne vsebuje pankreatina [11].

1.2.2 Biorelevantni mediji

Z uporabo biorelevantnih medijev je cilj čim bolje posnemati *in vivo* pogoje pri *in vitro* poskusih, saj je sestava biorelevantnega medija prilagojena glede na del GIT, ki se ga želi simulirati. Pri sproščanju z biorelevantnimi mediji se lahko izvaja simulacija pogojev na tešče in tudi pogojev s hrano. Sestava biorelevantnih medijev se med seboj razlikuje v naslednjih parametrih: vrsti pufrskega sistema, količini in vrsti žolčnih soli, prisotnosti oz. odsotnosti produktov lipolize in encimov ter v vrednosti pH, površinski napetosti, pufrski kapaciteti in osmolarnosti. [12]

1.2.2.1 Simulacija tekočin v želodcu

Biorelevantni medij za simulacijo želodčne tekočine v stanju na tešče (FaSSGF) je bil predstavljen v študiji [17] leta 2005. Pri primerjavi v preglednici II, kjer se primerjajo SGF mediji (z dodanimi različnimi surfaktanti) in FaSSGF glede na *in vivo* vrednosti v želodcu, pri pogojih na tešče je razvidno, da se FaSSGF veliko bolje približa *in vivo* vrednostim sestave tekočin v želodcu. [17] Zaradi boljšega posnemanja *in vivo* pogojev se z uporabo FaSSGF pri *in vitro* sproščanju bolje približamo *in vivo* sproščanju.

Preglednica II: Primerjava medijev za simulacijo želodčnega soka (SGF_{SLS} , $\text{SGF}_{\text{Triton}}$ in FaSSGF) skupaj z *in vivo* podatki o sestavi želodčnega soka je prikazana v spodnji preglednici. Oznaka SGF_{SLS} predstavlja simuliran želodčni sok z dodanim natrijevim lavril sulfatom, oznaka $\text{SGF}_{\text{Triton}}$ predstavlja simuliran želodčni sok z dodanim TritonX-om. [17]

Medij Sestava	SGF_{SLS}	$\text{SGF}_{\text{Triton}}$	FaSSGF	<i>In vivo</i> podatki
Natrijev lavril sulfat [% m/v]	0,25	/	/	/
TritonX 100 [% m/v]	/	0,1	/	/
Pepsin [mg/ml]	/	/	0,1	~ 0,8
Natrijev taurholat [$\mu\text{mol/l}$]	/	/	80	~ 80
Lecitin [$\mu\text{mol/l}$]	/	/	20	/
Natrijev klorid [mmol/l]	34,2	34,2	34,2	68 ± 29
Površinska napetost [mN/m]	33,7	32,0	42,6	$41,0 \pm 6,0$
Osmolarnost [mosm/kg]	$180,5 \pm 3,6$	$157,7 \pm 2,9$	$120,7 \pm 2,5$	191 ± 36
pH	1,2	1,2	1,6	1,4 – 2,1

1.2.2.2 Simulacija tekočin črevesja

V raziskavi [13] so bili leta 1998 predstavljeni biorelevantni mediji za sproščanje, ki simulirajo pogoje v proksimalnem delu tankega črevesa (FaSSIF – simuliran medij tankega črevesa v pogojih na tešče in FeSSIF – simuliran medij tankega črevesa v pogojih s hrano). Kompleksna sestava, drage PAS, vprašljiva stabilnost (pripravljajo se na isti dan kot potekajo poskusi sproščanja) so razlog za visoko ceno medijev in omejeno uporabo kot redni medij za kontrolo kakovosti, kjer se uporablja medija SGF_{sp} in SIF_{sp}. [5]

Modifikacija medija FaSSIF je bila objavljena v študiji, ki so jo leta 2008 objavili Jantratid in njegovi sodelavci [14] in jo poimenovali kot FaSSIF-V2. Medij FaSSIF-V2 so modificirali v sestavi in lastnostih, z namenom da so se še bolj približali *in vivo* pogojem. Sestava in lastnosti medijev FaSSIF in FaSSIF-V2 so prikazane v preglednici III. Kot je razvidno iz preglednice, so bistvene razlike v nižji koncentraciji lecitina pri FaSSIF-V2, zato je tudi razmerje med natrijevim tauroholatom in lecitinom različno, fosfatni pufer je zamenjan z maleatnim pufrom. [16]

Preglednica III: Primerjava sestave in lastnosti med medijema FaSSIF in FaSSIF-V2 je predstavljena v spodnji preglednici. [4,14,15]

Medij Sestava	FaSSIF	FaSSIF-V2	Medij Lastnosti	FaSSIF	FaSSIF-V2
Natrijev tauroholat [mmol/l]	3	3	Osmolarnost [mosm/kg]	270 ± 10	180 ± 10
Lecitin [mmol/l]	0,75	0,2	pH	6,5	6,5
Natrijev klorid [mmol/l]	105,85	68,62	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]]	12	10
Natrijev hidroksid [mmol/l]	8,7	34,8	Površinska napetost [mN/m]	54	54,3
Dinatrijev fosfat [mmol/l]	28,65	/			
Maleinska kislina [mmol/l]	/	19,12			
Razmerje natrijev tauroholat: lecitin	4:1	15:1			

Leta 2015 so v študiji [16] Fuchs in njegovi sodelavci predstavili novo modifikacijo medija FaSSIF in sicer FaSSIF-V3. Posamezne različice FaSSIF-V3 sestavljajo različne vrste žolčnih soli (TC-tauroholat, GC-glikoholat, TUDC-taurooursodeoksiholat, TCDC-taurochenodeoksiholat, GCDC-glikochenedeoksiholat). Količino lecitina so nadomestili s produkti njegove hidrolize, lizolecitinom in natrijevim oleatom. Različice medija FaSSIF-V3 posnemajo vrednosti pH, osmolarnost in vsebnost fosfolipidov v črevesnih tekočinah v stanju na tešče. V preglednici IV so predstavljene različice FaSSIF-V3, z različno vsebnostjo žolčnih soli različnih vrst in skupne lastnosti vseh različic FaSSIF-V3. [16].

Preglednica IV: V preglednici so predstavljene različice FaSSIF-V3, njihova sestava in skupne lastnosti. Pomen oznak žolčnih soli: TC-tauroholat, GC-glikoholat, TUDC-taurooursodeoksiholat, TCDC-taurochenodeoksiholat, GCDC-glikochenedeoksiholat. [16]

SESTAVA					SKUPNE LASTNOSTI	
Ime FaSSIF-V3 različice	Žolčne soli [mM]	Koncentracija fosfolipidov (PL): Lecitin/ lizolecitin [mM]	Natrijev oleat [mM]	Holesterol (Chol) [mM]	Razmerje žolčnih soli/ fosfolipidov	9/1
FaSSIF-V3-TC	TC=2,8	0,035/0,315	0,315	/	Osmolarnost	220 ± 10 mOsmol/kg
FaSSIF-V3-GC/TC	GC/TC=1,4/1,4	0,035/0,315	0,315	/	pH	$6,7 \pm 0,05$
FaSSIF-V3-GC	GC=2,8	0,035/0,315	0,315	/	Pufrska kapaciteta	5,6 mmol/l/ Δ pH
FaSSIF-V3-TC_1/2PL	TC=2,8	0,0175/0,1575	0,1575	/		
FaSSIF-V3-TUDC	TUDC=2,8	0,035/0,315	0,315	/		
FaSSIF-V3-TCDC	TCDC=2,8	0,035/0,315	0,315	/		
FaSSIF-V3-GC/TC_Chol	TC/GC=1,4/1,4	0,035/0,315	0,315	0,2		
FaSSIF-V3-GCDC	GCDC=2,8	0,035/0,315	0,315	/		

Vrednost površinske napetosti je eden izmed ključnih parametrov, ki mora ustrezati, da je pripravljen medij biorelevanten. Vse pripravljene različice medija FaSSIF-V3 imajo površinsko napetost znotraj območja izmerjenih *in vivo* vrednosti v človeškem črevesnem soku (28 – 46 mN/m). Različice medija FaSSIF-V3, ki jih sestavlja tauroholat ali glikoholat ali kombinacija obeh v razmerju 1:1, imajo površinsko napetost 33 – 34 mN/m in se najbolj približajo povprečni vrednosti površinske napetosti človeškega črevesnega soka. Žolčni kislini tauroholat in glikoholat sta bili izbrani za pripravo različice medija FaSSIF-V3, z dodanim holesterolom – FaSSIF-V3-GC/TC_Chol. Vrednost površinske napetosti pripravljenega medija je bila 35 mN/m. Dodatek holesterola je namreč pripomogel k temu, da se je vrednost površinske napetosti še bolj približala povprečni vrednosti površinske napetosti, ki je bila izmerjena pri *in vivo* pogojih. Zaradi tega je bila različica FaSSIF-V3-GC/TC_Chol izbrana kot glavna in najbolj ustrezna različica medijev FaSSIF-V3. Prvotni medij FaSSIF in njegova modifikacija – FaSSIF-V2 presegata *in vivo* vrednosti površinskih napetosti za 20 mN/m, kar nakazuje, da se modifikacija FaSSIF, medij FaSSIF-V3-GC/TC_Chol, bolje približa *in vivo* vrednostim, kot predhodniki. [16]

1.2.3 Vpliv pH medija na sproščanje ZU

Ka zdravilne učinkovine vpliva na sproščanje v medijih z različno vrednostjo pH. Kadar bo ZU v ionizirani obliki se bo dobro raztapljal in nasprotno, kadar bo v neionizirani obliki. Vrednosti pH medijev za simulacijo posameznega območja GIT, so predstavljene v preglednici V.

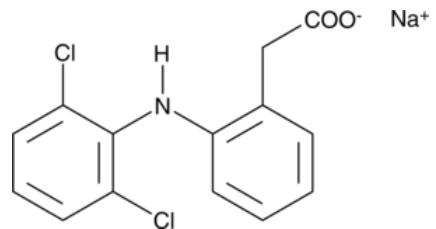
Preglednica V: Predstavljeni so mediji za simulacijo posameznih območij GIT. Poleg so navedene tudi vrednosti pH medijev. [10]

Območje GIT	Medij	pH medija
Želodec	SGFsp	1,2
	FaSSGF	1,6
Tanko črevo	SIFsp	6,8
	FaSSIF	6,5
	FeSSIF	5,0
Kolon	SCoF	5,8

1.3 Splošne lastnosti natrijevega diklofenakata in študije, kjer je bil uporabljen

Na-DF uvrščamo med nesteroidne protivnetne učinkovine. Deluje protibolečinsko, protivnetno in protivročinsko. Pogosto povzroča neželene učinke v gastrointestinalnem traktu zaradi fizikalno-kemijskega delovanja na mukus v želodcu in zaradi vnetnih učinkov povzročenih v TČ in kolonu. Neželeni stranski učinki Na-DF in kratek razpolovni čas, ki znaša približno 2 h [18] spodbujajo k razvoju in izdelavi FO s prirejenim sproščanjem. Z izbiro FO s prirejenim sproščanjem lahko pridobimo veliko prednosti za zdravljenje, kajti možna je izboljšana komplianca pacienta, hiter nastop delovanja zdravila, vzdrževanje terapevtske plazemske koncentracije dalj časa glede na FO s takojšnjim sproščanjem, zmanjšanje nihanja plazemskih koncentracij ZU, zmanjšanje pogostosti odmerjanja zdravila, zmanjšana uporabljeni količina ZU in posledično zmanjšana možnost nastanka neželenih učinkov zdravila ter izboljšana učinkovitost zdravila. [3] Na-DF uvrščamo glede na BCS klasifikacijo v 2. skupino, kar pomeni, da je izbrana ZU slabo topna, ampak dobro permeabilna [7].

Slika 1 prikazuje struktorno formulo Na-DF.



Slika 1: Struktorna formula Na-DF. [19]

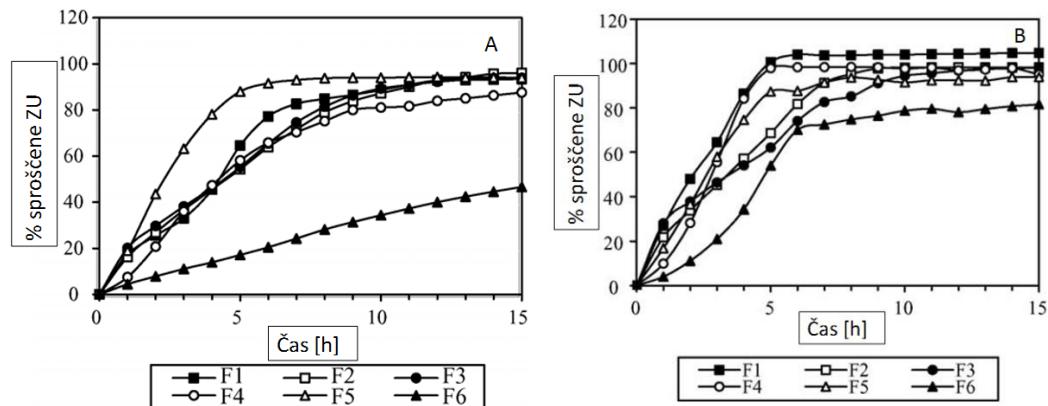
Bertocchi in sodelavci so v študiji [7] uporabili šest različnih vrst tablet z enako količino Na-DF in različno sestavo pomožnih snovi, ki so bile ogrodne tablete, z izjemo tablet z oznako F4 in F6. Tablete so uporabili pri poskusih sproščanja v osmih različnih medijih (uporabljeni mediji so navedeni v preglednici VI) in spremljali vpliv različne sestave tablet na % sproščenega Na-DF iz tablete.

Preglednica VI: Predstavljeni so uporabljeni mediji pri sproščanju tablet z Na-DF v študiji, ki so jo izvajali Bertocchi in sodelavci. [7]

Medij	Sestava medija
A	Simulirana črevesna tekočina (SIF _{sp}) brez pankreatina, z vrednostjo pH 6,8
A _{T1}	Medij A + Tween 20 (1% m/m)
A _{T3}	Medij A + Tween 20 (3% m/m)
B	Fosfatni pufer pH 8,0 (povzeto po Ph.Eur)
Voda	Deionizirana voda
C	Fosfatni pufer pH 4,5 (povzeto po Ph.Eur)
C _T	Medij C + Tween 20 (1% m/m)
D	Simuliran želodčni medij brez pepsina (SGFsp), z vrednostjo pH 1,2

Dodatek površinsko aktivne snovi (PAS) k SIF pH 6,8 (medij A):

Pri primerjavi poskusa sproščanja v mediju A in mediju AT₁ je razvidno, da ob dodatku PAS Tween 20 (1% m/m) pride do povečanega % sproščenega Na-DF. Dodatek PAS v medij povzroči zmanjšanje površinske napetosti, kar izboljša penetracijo medija v tableto in posledično pride do povečanega obsega sproščene ZU. Največja sprememba v sproščanju v medijih A in AT₁ je opazna pri tabletah z oznakama F4 in F6, ki niso ogrodne tablete. Na sliki 2 je prikazano sproščanje v mediju A (graf A) in v mediju AT₁ (graf B). [7]



Slika 2: Graf A prikazuje sproščanje v mediju A, graf B prikazuje sproščanje v mediju AT₁. Poleg so navedene oznake vseh šest vrst tablet z Na-DF. [7]

Naslednji poskus sproščanja se je izvedel v mediju AT₃ z dodanim Tweenom 20 v višji koncentraciji (3% m/m) kot pri AT₁ (1% m/m). Glede na sproščanje v mediju AT₁, se z višjo koncentracijo Tweena 20 v mediju AT₃ ne doseže večji % sproščenega Na-DF, ampak pride do zmanjšanja % sproščenega Na-DF. Kot razlog za manjši % sproščenega Na-DF so v študiji navedli povečanje viskoznosti medija in posledično zmanjšanje difuzijskega koeficienta Na-DF ter uporabo koncentracije PAS, ki je precej nad kritično micelarno koncentracijo. [7]

Uporaba fosfatnega pufrja s pH 8,0 (medij B):

Pri uporabi medija B s pH 8,0 se dosežejo višji % sproščene ZU, če se rezultati sproščanja primerjajo s predhodnimi poskusi, kjer so bili uporabljeni mediji – A, AT₁ ali AT₃ (pH medija je bil v teh poskusih 6,8), zaradi boljše topnosti učinkovine pri višjih vrednostih pH. [7]

Voda:

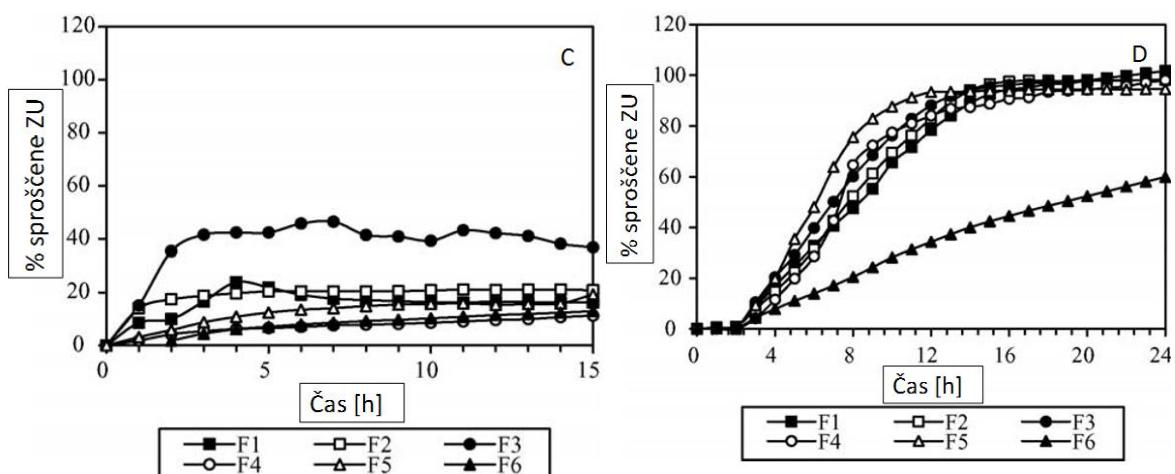
Pri sproščanju v vodi krivulje, ki predstavljajo odvisnost % sproščene ZU od časa, ohranjajo enako obliko kot pri zgoraj omenjenih medijih. V prvih 4 h je sproščanje hitrejše kot pri medijih s pH vrednostima 6,8 in 8,0. [7]

Uporaba fosfatnega pufra s pH 4,5 (medij C):

Pri sproščanju v mediju C so dosegli nižje vrednosti % sproščenega Na-DF kot pri ostalih medijih in je prikazano na sliki 3, graf C. Sprostilo se je le 10-20% Na-DF, do platoja je prišlo pri 4 h, z izjemo pri tabletah z oznako F3, kjer se je sprostilo 40% in doseglo plato pri 3 h. Boljše sproščanje pri tabletah z oznako F3 so avtorji pripisali fizikalno-kemijskim lastnostim Na-DF (v obliki granulata, kristalinična, hidratirana oblika), ki je bil uporabljen pri teh vrstah tablet. Z dodatkom Tweena 20 (1% m/m) k fosfatnem pufru s pH 4,5 (medij C_t) se poveča % sproščene ZU. [7]

Uporaba pufra s pH vrednostjo 1,2 (medij D) ter zamenjava s pufrom z višjim pH – 6,8 (medij A):

Pufer s pH vrednostjo 1,2 simulira medij v želodcu. Znotraj tega območja se sprosti zelo nizek % Na-DF, manj kot 1%, saj je topnost diklofenaka v kislem mediju zelo slaba. Po 2h so medij D zamenjali z medijem A s pH 6,8 z namenom, da se je pospešila hitrost sproščanja. pride do podobnega poteka sproščanja kot v mediju A, le, da plato krivulje nastopi z zamikom, doseže se tudi 90-100% sproščenega Na-DF. Sproščanje je prikazano na sliki 3, graf D. [7]



Slika 3: Graf C prikazuje sproščanje v mediju C, graf D prikazuje sproščanje v mediju D, ki je bil po 2h od začetka sproščanja zamenjan z medijem A. Poleg so navedene oznake vseh šest vrst tablet z Na-DF. [7]

Jantratid in sodelavci so v študiji [12] izdelali pelete s prirejenim sproščanjem, ki so vsebovale 100 mg Na-DF. Izvajali so sproščanje z različnimi mediji (fosfatni pufer s pH 6,8 in biorelevantni mediji), v različnih aparaturah za sproščanje. Rezultate sproščanj so uporabili pri izvedbi *in vitro in vivo* korelacije (IVIVC).

Uporaba fosfatnega pufra pH 6,8:

Pri sproščanju v fosfatnem pufru pH 6,8 se je do 120. minute sprostilo 85% Na-DF.

Prikazano je na sliki 4, na grafu z oznako A. [12]

Uporaba biorelevantnih medijev:

Sproščanje z biorelevantnimi mediji (predstavljeno na sliki 4, na grafu z oznako B) je bilo izvedeno pri simulaciji stanja v GIT na tešče in s hrano, z zaporednim dovajanjem petih medijev, ki so predstavljeni v preglednici VII. Vsak medij je simuliral določen del v GIT, saj se je ujemal z vrednostjo pH in s časom zadrževanja v GIT glede na *in vivo* podatke. Mediji, njihove vrednosti pH in časi dovajanja medija so predstavljeni v preglednici VII.

Preglednica VII: Predstavljeni so uporabljeni biorelevantni mediji pri sproščanju, pri pogojih na tešče in ob prisotnosti hrane v GIT. Navedene so tudi vrednosti pH in časi dovajanja posameznega medija. [12]

Pogoji Območje GIT	NA TEŠČE		PRISOTNOST HRANE V GIT		
	Biorelevantni medij		Čas dovajanja [min]	Biorelevantni medij	
	Vrsta	pH		Vrsta	pH
Želodec	FaSSGF	1,6	60	FeSSGF	5,0
Dvanajstnik/Jejunum	New-FaSSIF	6,5	45	New-FeSSIF	5,8
Jejunum/Ileum	Half-FaSSIF	7,0	45	Half-FeSSIF	6,5
Distalni ileum	FaSSIF-sans	7,5	120	FeSSIF-sans	7,5
Kolon	SCoF	5,8	480	SCoF	5,8

Prisotnost določenih komponent in njihova količina ter lastnosti biorelevantnih medijev, pri stanju na tešče so predstavljene v preglednici VIII in pri stanju s hrano v preglednici IX.

Preglednica VIII: V preglednici so predstavljene žolčne soli in encimi, ki sestavljajo biorelevantne medije ter njihove lastnosti. Mediji so bili uporabljeni pri sproščanju, pri simuliraju pogojev na tešče v GIT. [12]

Medij	FaSSGF	New-FaSSIF	Half-FaSSIF	FaSSIF-sans	SCoF
Vsebnost žolčnih soli in encimov					
Žolčne soli					
Natrijev tauroholat	80 µM	3,0 mM	1,5 mM	/	/
Lecitin	20 µM	0,2 mM	0,2 mM	/	/
Encim					
Pepsin	0,1 mg/ml	/	/	/	/
Pankreatin	/	/	/	/	/
Lastnosti					
pH	1,6	6,5	7,0	7,5	5,8
Osmolarnost [mOsm/kg]	120,7	180	270	270	295
Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	/	10	10	10	29

Preglednica IX: V preglednici so predstavljene žolčne soli, produkti lipolize in encimi, ki sestavljajo biorelevantne medije ter njihove lastnosti. Mediji so bili uporabljeni pri sproščanju, pri simuliraju pogojev s hrano v GIT. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani. [12]

Medij	FeSSGF	New-FeSSIF	Half-FeSSIF	FaSSIF-sans	SCoF
Vsebnost žolčnih soli, produktov lipolize in encimov					
Žolčne soli					
Natrijev tauroholat	/	3,0 mM	1,5 mM	/	/
Lecitin	/	0,2 mM	0,2 mM	/	/
Produkti lipolize					
Gliceril monooleat	/	5,0	/	/	/
Natrijev oleat	/	0,8	/	/	/
Encim					
Pepsin	/	/	/	/	/
Pankreatin	/	100	/	/	/

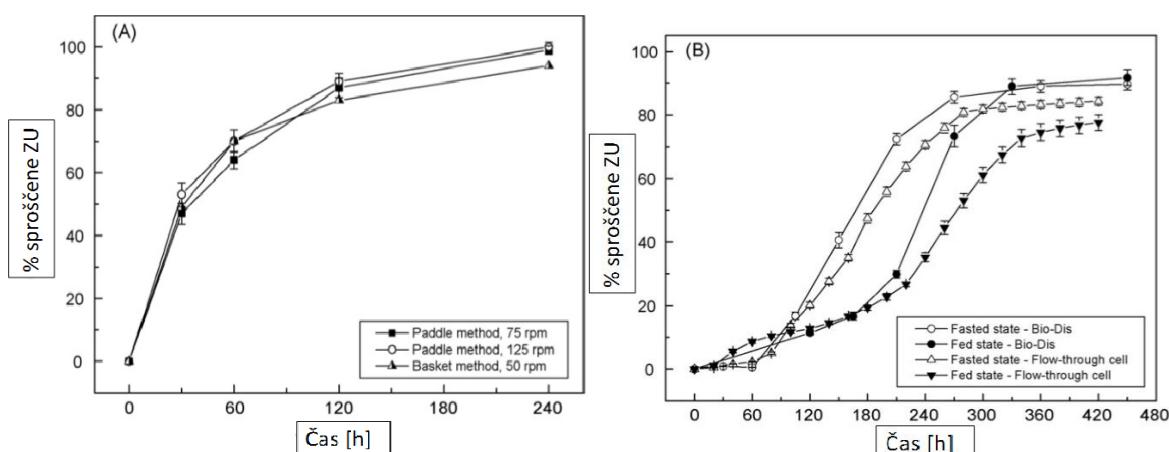
Lastnosti (nadaljevanje preglednice IX)					
pH	5,0	5,8	6,5	7,5	5,8
Osmolarnost [mOsm/kg]	400	390	270	270	295
Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	25	25	10	10	29

Zaradi lastnosti diklofenaka, ki ga uvrščamo med šibke kisline s pKa 3,8 [20] so pričakovali, da se bo v želodcu sproščal v zelo majhnem obsegu. Čas zadrževanja FO v želodcu, pri izvajanju sproščanja v raziskavi, pri pogojih na tešče je bil 60 minut, zato takoj pri simulaciji prehoda v območje z višjim pH – v dvanajstnik po 60. minutah pride do povečanja % sproščenega Na-DF. Prisotnost hrane v želodcu povzroči zakasnel prehod FO iz želodca pri *in vivo* pogojih, zato so izbrali čas zadrževanja FO v želodcu pri stanju s hrano (120 minut) daljši, kot pri stanju na tešče (60 minut). Hrana povzroči zvišanje pH v želodcu, kar povzroči sproščanje Na-DF. [12]

Največja količina Na-DF (pri stanjih na tešče in s hrano), se sprosti v območju TČ, saj pH medijev za simulacijo TČ znaša 5,8 – 7,5 in je ugoden zaradi dobre topnosti diklofenaka pri teh pH vrednostih. Po približno 6 h, od začetka sproščanja, je sproščen skoraj ves Na-DF pri pogojih na tešče in s hrano. [12]

Z uporabo biorelevantnih medijev so ugotovili, v katerem predelu GIT se sprošča Na-DF v največjem obsegu. S tremi različicami biorelevantnih medijev, ki so jih dovajali zaporedno, so se še bolj približali fiziološkim pogojem v tankem črevesju, saj *in vivo* pH postopoma narašča vzdolž TČ, količina žolčnih soli pa se manjša. [12]

Pri sproščanju s to vrsto pelet, v sistemu z več zaporednimi mediji so prišli do spoznanja, da je sproščanje Na-DF po prehodu pelet v dvanajstnik počasnejše v stanju s hrano kot na tešče, saj se po prehodu pri pogojih na tešče hitrost sproščanja poveča in pri pogojih s hrano zmanjša. Rezultati sproščanja v biorelevantnih medijih so prikazani na sliki 4, graf B. [12]



Slika 4: Graf A prikazuje sproščanje Na-DF v fosfatnem pufru 6,8, graf B pa v biorelevantnih medijih pri pogojih na tešče (prazni liki na krivulji) in pri pogojih s hrano (polni liki na krivulji). [12]

2 Namen dela

V sklopu moje magistrske naloge bomo izvedli tri različne simulacije *in vitro* profilov pH vzdolž celotnega GIT tako, da se bomo skušali čim boljše približati *in vivo* literaturnim vrednostim pH. Individualne *in vivo* literaturne vrednosti pH vzdolž GIT so bile predhodno odčitane s pomočjo programa Engauge Digitizer in kot končni rezultat obdelave podatkov bomo uporabili vrednosti pH v odvisnosti od časa nahajanja v GIT območju. Profili pH se bodo med seboj razlikovali v vrednostih pH v časovni odvisnosti, času simulacije zadrževanja v želodcu in TČ. Naš cilj je, da ugotovimo vplive omenjenih razlik simuliranih profilov na sproščanje natrijevega diklofenakata (Na-DF) iz ogrodnih tablet s hidroksipropil metilcelulozo (HPMC).

In vitro simulacijo profilov pH bomo izvedli z dovajanjem zaporedja različnih medijev, z ustreznim pH vrednostmi, ki simulirajo pH območja GIT, na pretočnem sistemu s steklenimi kroglicami, ki simulirajo gibanje GIT. Za simulacijo območja želodca bomo uporabili HCl, za prehod v dvanajstnik Na_3PO_4 različnih koncentracij, za območje tankega črevesa in kolona McIlvainove pufre (McIlP) različnih pH vrednosti in redčitev. Za simulacijo profilov želimo uporabiti čim manjše število medijev ter tako omogočiti čim lažjo izvedbo.

Izbrane medije za simulacijo bomo skušali čim bolje približati tudi ciljnim vrednostim pufrske kapacitete, ki smo jih povzeli po različnih študijah *in vivo* meritev pufrske kapacitete. Z ustrezno pufrsko kapaciteto medijev se bomo še bolje približali *in vivo* pogojem.

Ko bomo dosegli dobro ponovljivost simulacije profilov pH in vrednosti pufrske kapacitete, bomo pričeli s procesi sproščanja ogrodnih tablet z Na-DF, ki jih bomo izvajali na enakem pretočnem sistemu, pod enakimi pogoji kot so bile izvedene simulacije profilov. Naš cilj je, da med vsemi uspešno simuliranimi profili uspemo najti vpliv razlik med simuliranimi profili pH na samo sproščanje Na-DF iz ogrodnih tablet.

3 Materiali in metode

3.1 Materiali, aparature in laboratorijska oprema

3.1.1 Materiali

Materiali, ki smo jih uporabili za pripravo raztopin soli, pufrov, izdelavo tablet, simulacijo profilov pH in teste sproščanja:

- dinatrijev hidrogenfosfat (Na_2HPO_4), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- citronska kislina monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- trinatrijev fosfat dodekahidrat ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- Titrisol ® natrijev hidroksid (NaOH), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- Titrisol ® klorovodikova kislina (HCl), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija;
- natrijev diklofenakat, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinhein, Nemčija;
- Hidroksipropil metilceluloza (HPMC; metolose 90SH 4000SR), Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Tokio, Japonska;
- magnezijev stearat, LEX d.o.o., Koper, Slovenija;
- laktoza monohidrat; Caesar & Loretz GmbH, Nemčija;
- pufrna raztopina pH=7, PanReac AppliChem, Darmstadt, Nemčija;
- pufrna raztopina pH=4, PanReac AppliChem, Darmstadt, Nemčija;
- prečiščena voda.

3.1.2 Aparature in laboratorijska oprema

Aparature in laboratorijska oprema, ki smo ji uporabili kot del pretočnega sistema za simulacijo profilov pH in izvajanje testov sproščanja:

- peristaltične črpalke IKA®- WERKE ISM817, IKA®-WERKE GmbH & Co. KG, Staufen, Nemčija in ISMATEC ISM444B, Wertheim, Germany (interne oznake G1, G2 in M1);
- stojala za peristaltične črpalke;

- silikonske cevke (debelina silikona 1,6 mm, notranji premer 3,2 mm, zunanji premer 6,4 mm), Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Nemčija;
- nastavki za avtomatsko pipeto 20 µl – 200 µl;
- kovinska mrežica z velikostjo odprtin 500 µm;
- magnetna mešala z električnimi grelci IKA®-RET CV, IKA®-WERKE GmbH & Co. KG, Staufen, Nemčija (interni oznaki G1 in G2);
- steklena posoda za vodno kopel;
- steklene delovne čaše z volumnom 150 ml (notranji premer 55 mm), Schott Duran, Nemčija;
- magneti (premer 8 mm, dolžina 50 mm);
- polipropilenski pokrovi za delovno čašo in vodno kopel;
- steklene kroglice (premer 1 mm);
- digitalni štoparici Hanhart 06A03, Hanhart 1882 GmbH, Gütenbach, Nemčija;
- pH meter Mettler Toledo MP220, Mettler Toledo GmbH, Schwezenbach, Švica;
- pH meter MA 57590, Iskra, Slovenija;
- elektroda za pH meter Mettler Toledo InLab®Expert Pro, Mettler Toledo GmbH, Schwerzembach;
- merilni valj (100 ml);
- filtri iz regenirane celuloze z velikostjo por 0,45 µm, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Goettingen, Nemčija;
- brizge (10 ml);
- epruvete (10 ml);
- steklena palčka;
- pinceta.

Druge aparature in laboratorijski pribor, ki smo jih uporabili pri pripravi pufrov, raztopin soli, izdelavi tablet, merjenju zbranih vzorcev, pri izvajanju testih sproščanja:

- digitalna tehnica Exacta 300 EB, Exacta, Železniki, Slovenija;
- analizna tehnica Mettler Toledo AG245, Mettler Toledo GmbH, Schwerzenbach, Švica;
- avtomatske pipete Eppendorf research, Hamburg, Nemčija;
- čaše (25 ml, 50 ml, 100 ml, 150 ml, 250 ml, 500 ml);
- polnilne bučke (25 ml, 50 ml, 100 ml, 200 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml, 2000 ml);
- merilni valji (50 ml, 100 ml);
- polnilne pipete (5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml), Blaubrand, Nemčija;
- tehtiči, čolnički, žličke, spatule;
- ultrazvočna kopel Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija;
- ultrazvočna kopel Bandelin Sonorex RK514BH, Bandelin electronic, Berlin, Nemčija;
- UV- Vis spektrofotometer Agilent 8453, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ZDA;
- kiveta z dolžino stranice 1 cm;
- vorteks stresalnik Lab Dancer, IKA[®] - WERKE GmbH & Co. KG, Staufen, Nemčija;
- tabletirka na udarec Kilian SP300, KILIAN Tableting GmbH, Köln, Nemčija;
- aparatura za merjenje trdnosti tablet Tablet hardness tester VK 200 Vanderkamp[®], ZDA;
- plastična vrečka;
- patena in pestilo.

3.2 Priprava raztopin

- **1 M HCl:** V 1000 mL bučko smo najprej nalili malo prečiščene vode, nato kvantitativno prenesli vsebino Titrisol®-a za pripravo 1 M HCl in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.
- **1 M NaOH:** V 1000 mL bučko smo najprej nalili malo prečiščene vode, nato kvantitativno prenesli vsebino Titrisol®-a za pripravo 1 M NaOH in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.
- **0,1 M NaOH:** V 1000 mL bučko smo najprej nalili malo prečiščene vode, z merilnim valjem odmerili 100 mL 1 M NaOH in prelili v bučko ter jo dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.
- **20 mM HCl:** V 1000 mL bučko smo najprej nalili malo prečiščene vode, s polnilno pipeto odmerili 20 mL 1 M HCl in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.
- **30 mM HCl:** V 1000 mL bučko smo najprej nalili malo prečiščene vode, s polnilno pipeto odmerili 30 mL 1 M HCl in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.
- **50 mM HCl:** V 1000 mL bučko smo najprej nalili malo prečiščene vode, s polnilno pipeto odmerili 50 mL 1 M HCl in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.
- **Raztopine Na₃PO₄:** V 100 ml bučko smo kvantitativno prenesli natehtano količino Na₃PO₄ × 12 H₂O in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo. Natehtane količine za različne koncentracije raztopin Na₃PO₄ so navedene v preglednici X.

Preglednica X: Količina Na₃PO₄ × 12 H₂O, ki je potrebna za pripravo določene koncentracije raztopine Na₃PO₄ z volumenom 100 ml.

Koncentracija raztopine Na ₃ PO ₄ [mM]	Natehtana količina Na ₃ PO ₄ × 12 H ₂ O [g]
90	3,42
100	3,80
110	4,18
120	4,56
150	5,70
160	6,08
170	6,44
280	10,65

- **0,2 M Na₂HPO₄:** V 500 mL bučko smo kvantitativno prenesli 14,196 g Na₂HPO₄, ga raztopili v prečiščeni vodi na magnetnem mešalu in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

- **0,1 M citronska kislina:** V 500 mL bučko smo kvantitativno prenesli 10,507 g citronske kisline monohidrata, ga raztopili v prečiščeni vodi in bučko dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

3.2.1 McIlvainovi pufri

McIlvainove pufre (McIlP) sestavljajo različna volumska razmerja 0,2 M Na₂HPO₄ in 0,1 M citronske kisline, s katerim reguliramo pH McIlP. Za določanje ustrezone količine glavnih komponent McIlP smo si pomagali s podatki iz predhodne diplomske naloge [24] in s preglednico, ki je predstavljena v prilogi 1. V prilogi 1 [21] je preglednica s podanimi količinami 0,1 M citronske kisline in 0,2 M Na₂HPO₄ za pripravo neredčenih McIlP različnih pH vrednosti, katerih je skupen volumen 20 ml. Količine glavnih dveh komponent je bilo potrebno prilagoditi glede na končen pH redčenega pufra, nato pa jih ustrezeno redčiti s prečiščeno vodo, glede na ciljno vrednost pufrske kapacitete. V preglednici XI so količine glavnih komponent McIlP, ki so bili uporabljeni pri simulaciji profilov pH.

Preglednica XI: Za posamezen McIlP (podan pH in redčitev) je podan potreben volumen 0,1 M citronske kisline in 0,2 M Na₂HPO₄. Naveden je tudi volumen pripravljenega McIlP.

Oznaka pufra	McIlP		0,2 M Na ₂ HPO ₄ [ml]	0,1 M citronska kislina [ml]	Volumen McIlP [ml]
	pH	redčitev			
McIlP 4,8 (2x)	4,8	2 ×	232,0	268,0	1000
McIlP 5,2 (2x)	5,2	2 ×	26,8	25,2	100
McIlP 5,2 (8x)	5,2	8 ×	67,0	58,0	1000
McIlP 5,5 (4x)	5,5	4 ×	67,0	58,0	500
McIlP 6,0 (10x)	6,0	10 ×	59,0	42,0	1000
McIlP 6,4 (15x)	6,4	15 ×	42,1	24,5	1000
McIlP 6,5 (4x)	6,5	4 ×	82,6	42,4	1000
McIlP 6,6 (15x)	6,6	15 ×	22,0	11,3	500
McIlP 6,8 (15x)	6,8	15 ×	46,7	20,0	1000
McIlP 7,0 (10x)	7,0	10 ×	52,0	17,5	1000
McIlP 7,2 (10x)	7,2	10 ×	27,0	6,37	500
McIlP 7,6 (10x)	7,6	10 ×	90,0	10,0	1000
McIlP 7,7 (15x)	7,7	15 ×	30,75	2,63	500
McIlP 8,1 (7x)	8,1	7 ×	139,6	3,4	1000
McIlP 8,1 (15x)	8,1	15 ×	65,0	1,6	1000

3.3 Metode

3.3.1 Izbira *in vivo* profilov pH in njihova obdelava

Izbrali smo tri *in vivo* individualne profile pH, katerim smo se žeeli pri *in vitro* poskusih čim bolje približati. Koziolek in sodelavci so izvedli 2 študiji [22] s pomočjo kapsule, s katero so spremljali spremembo pH v odvisnosti od časa med prehodom skozi celotni GIT. Izbrali smo profila pH oseb 2 in 3 iz 2. študije. Profil osebe 2 smo poimenovali nizek profil (N), profil osebe 3 pa visok profil (V). Tretji individualni profil smo izbrali iz študije, ki so jo izvedli Sasaki in sodelavci [23], kjer so uporabili radiotelemetrično kapsulo in spremljali odvisnost pH od časa med prehodom skozi celotni GIT. Izbrani profil iz te študije smo

označili kot srednji profil (S). V obeh primerih so rezultate študije predstavili v obliki grafa, ki je prikazoval odvisnost pH od časa po aplikaciji kapsule. Rezultati vseh študij so bili obdelani s pomočjo programa Engauge Digitizer, s katerim smo pridobili številčne vrednosti pH v odvisnosti od časa. V sklopu našega dela je celoten poskus simulacije profila pH trajal približno 400 minut, saj smo območje kolona simulirali krajsi čas, kot pa v študijah [22,23], kjer so spremljali pH do izločitve kapsule iz kolona in je celoten poskus trajal 12 – 14 h.

3.3.2 Pretočni sistem

Simulacije profilov pH smo izvajali na pretočnih sistemih z internima oznakama G1 in G2 (v prilogi 2 je predstavljen pretočni sistem G2). Pretočni sistem sestavlja peristaltična črpalka, ki s pomočjo rotorja poganja medij po dveh silikonskih cevkah, ki sta vpeti v peristaltično črpalko. Pred začetkom dela na pretočnih sistemih smo s pomočjo privijanja oz. odvijanja vijakov uravnali pretok medija skozi silikonski cevki na 2 ml/min. Ena cevka (dovodna cevka) dovaja svež medij iz čaše za medij v delovno čašo, druga cevka (odvodna cevka) pa odvaja medij iz delovne čaše v merilni valj, kjer zbiramo naše vzorce. Na strani odvodne cevke, ki se nahaja tik pod gladino medija v delovni čaši je dodana kovinska mrežica z velikostjo odprtin 500 µm, ki preprečuje, da bi pri poskusih sproščanja prečrpali iz delovne čaše v merilni valj kakršnekoli večje delce.

Vse simulacije smo izvajali pri enakih delovnih pogojih in pretoku medija skozi silikonske cevke. Poskus je potekal v 150 ml delovni čaši, v kateri je bilo 25,0 g steklenih kroglic, 40 ml medija in magnet. Vsebino v delovni čaši smo mešali s pomočjo magnetnega mešala s hitrostjo 50 rpm in ves čas konstantno vzdrževali temperaturo 37°C. Delovna čaša se je nahajala znotraj vodne kopeli, pokrita je bila s polipropilenskim pokrovom s tremi odprtinami. Odprtine so bile namenjene za dovodno cevko, ki je dovajala svež medij, odvodno cevko, ki je odvajala medij iz delovne čaše ter za elektrodo pH metra.

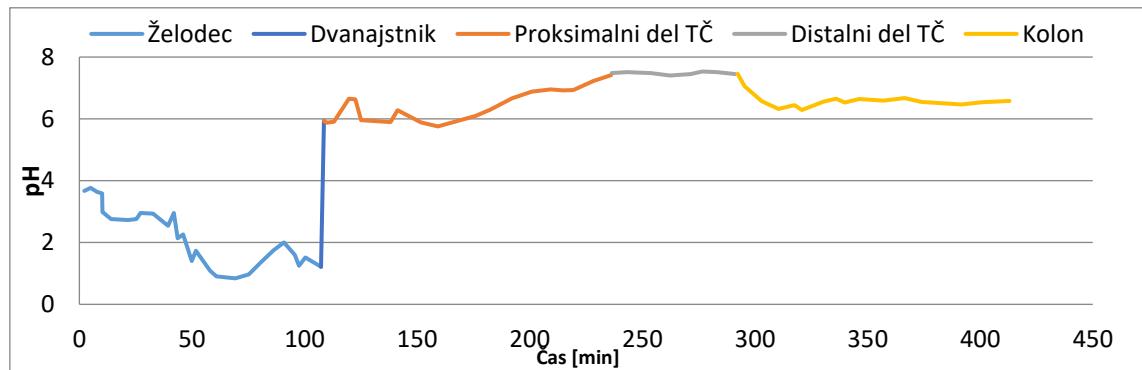
3.3.3 Praktična izvedba simulacije profila pH

Pred začetkom izvedbe poskusa smo pripravili medije potrebne za simulacijo in jih nalili v čaše za dovanjanje medija (oznaka 4 na sliki v prilogi 2) ter z začetnim medijem napolnili silikonske cevke (oznaka 7 in 8 na sliki v prilogi 2). Ob menjavi medija smo čim hitreje prestavili dovodno cevko v novo čašo, z novim medijem. pH meter smo pred uporabo kalibrirali na pH=7. Tekom poskusa smo merili pH v odvisnosti od časa v delovni čaši. Čas smo pričeli meriti sočasno ob zagonu peristaltične črpalke. Časovne točke meritev pH so bile za vse paralelke posameznih profilov pH enake. Ob menjavi medijev smo merili bolj

pogosto (merjenje pH na 0,5, 1 ali 2 minuti), kajti takrat je prišlo do največje spremembe vrednosti pH-ja, pri daljšem času dovajanja enakega medija, smo merili vrednosti pH redkeje (merjenje pH na 5, 10, 20 minut). Profil smo vedno simulirali najprej po delih (simulacija hitrega dviga pH iz želodca v dvanajstnik, simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ, simulacija padca pH ob prehodu iz distalnega dela TČ v proksimalni del kolona), nato sestavili profil iz simuliranih delov in ga simulirali v celoti ter izvedli več paralelk, ki so morale biti med seboj ponovljive.

3.3.3.1 Razdelitev simulacije profilov pH

Celoten profil pH (primer predstavljen na sliki 5) simulira pH območja vzdolž GIT od želodca, dvanajstnika, proksimalnega in distalnega dela TČ, do prehoda skozi ileocekalni sfinkter v proksimalni del kolona.



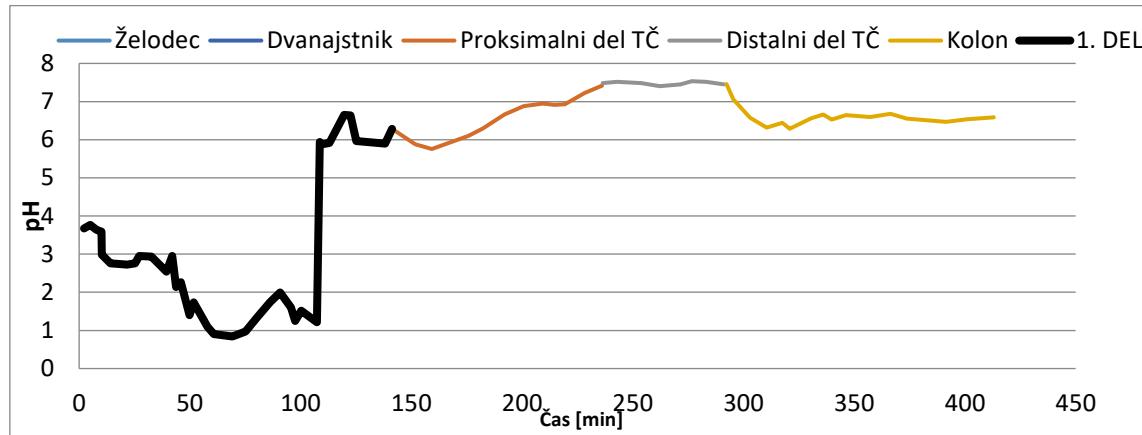
Slika 5: Razdelitev in vivo profila na območja GIT. Profil je povzet po študiji Sasakija in sodelavcev [23].

Vsak posamezen profil smo najprej simulirali po delih, nato pa celotni profil sestavili iz simuliranih delov. Preglednica XII in slike 5 – 7 prikazujejo razdelitev profila pH na 3 dele. V preglednici XII so navedeni uporabljeni mediji za simulacijo posameznega dela profila.

Preglednica XII: Razdelitev simuliranega profila pH. Navedeni so mediji za simulacijo posameznih delov.

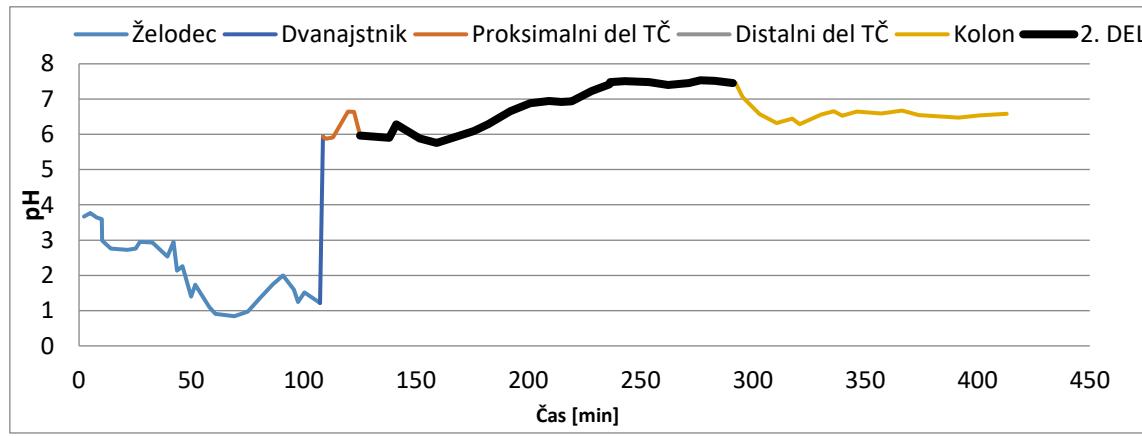
	Razdelitev simuliranega profila pH	Uporabljen medij za simulacijo	
1.	Simulacija želodca in hiter dvig pH, ki simulira prehod iz območja želodca v dvanajstnik ter simulacija pH v proksimalnem delu TČ	1. raztopina HCl 2. Na ₃ PO ₄ 3. McIIIP	Z raztopino HCl smo simulirali pH želodca na teče. Želeli smo doseči hiter dvig pH iz želodca v dvanajstnik z ustrezno koncentracijo in časom dovajanja raztopine Na ₃ PO ₄ , pH v zelo kratkem času hitro naraste, nato postopoma raste do pH uporabljenega McIIIP, ki simulira območje proksimalnega dela TČ.
2.	Območje TČ		pH skozi proksimalni in distalni del TČ postopoma narašča, po določenem času dovajanja se ustavi do enakega pH kot je pH izbranega McIIIP. Za oba posamezna dela TČ uporabimo različna McIIIP (proksimalni del – nižji pH, distalni del – višji pH). Oba dela sta povezana s platojem, kjer pride ob ustrezni kombinaciji uporabljenih McIIIP do dviga pH.
	Proksimalni del TČ	McIIIP	
	Dvig pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ	Kombinacija dveh McIIIP	
	Distalni del TČ	McIIIP	Ob prehodu skozi ileocekalni sfinkter pride do padca pH, saj je pH v distalnem delu TČ višji kot v proksimalnem delu kolona.
3.	Padec pH iz TČ v proksimalni del kolona	McIIIP	

Simulacija pH želodca in dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ je predstavljena na sliki 6.



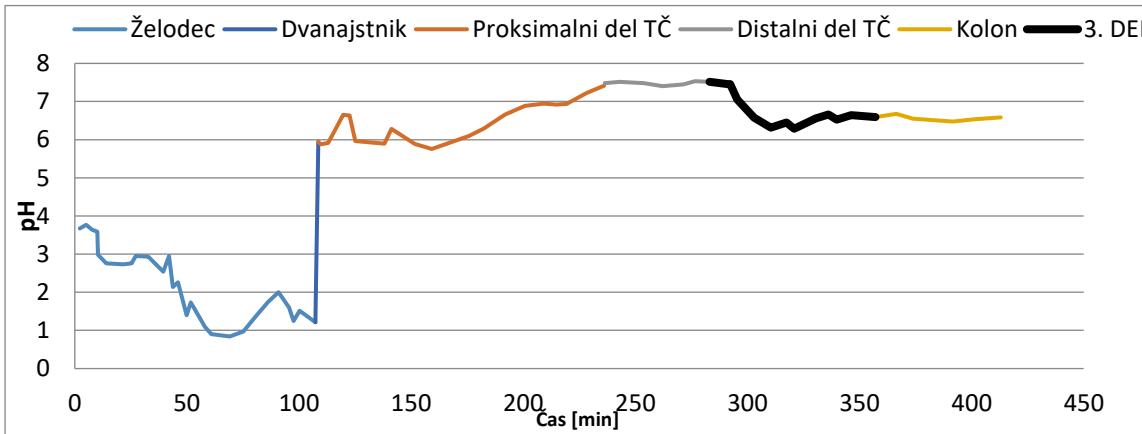
Slika 6: Simulacija pH želodca in dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ je označena na grafu kot 1. del – črna krivulja. Profil je povzet po študiji Sasakija in sodelavcev [23].

Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela TČ v distalni del TČ je predstavljena na sliki 7.



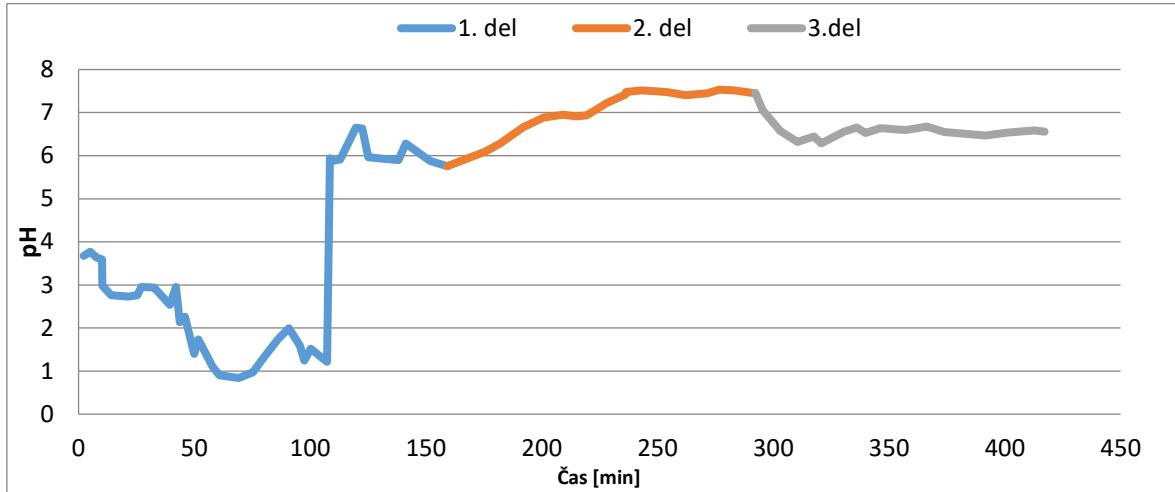
Slika 7: Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela TČ v distalni del TČ je označena na grafu kot 2. del – črna krivulja. Profil je povzet po študiji Sasakija in sodelavcev [23].

Simulacija padca pH pri prehodu iz distalnega dela TČ v proksimalni del kolona je predstavljena na sliki 8.



Slika 8: Simulacija padca pH pri prehodu iz distalnega dela TČ v proksimalni del kolona je označena na grafu kot 3. del – črna krivulja. Profil je povzet po študiji Sasakija in sodelavcev [23].

Ko smo vse tri dele profila uspešno simulirali, smo celotni profil sestavili iz simuliranih delov, kar je prikazano na sliki 9.



Slika 9: Simulacija celotnega profila po delih. 1.del prikazuje simulacijo območja želodca in dviga pH pri prehodu iz želodca v dvajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ, 2.del prikazuje simulacijo dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ, 3.del prikazuje simulacijo padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona. Profil je povzet po študiji Sasakija in sodelavcev [23].

3.3.4 Simulacija visokega profila

3.3.4.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ pri visokem profilu

Kot začetni medij smo pri visokem profilu vedno uporabili 20 mM HCl, ki je bila uporabljena že v predhodni magistrski nalogi [24], v sklopu moje magistrske naloge pa smo predhodno delo nadaljevali. Z uporabo 20 mM HCl smo simulirali pH želodca, ki je pri tem profilu znašal 1,9. Takoj po prehodu iz želodca v dvajstnik smo želeli imeti pH približno 6,0, ki pa naraste do 60. minute poskusa v območju proksimalnega dela TČ na pH približno 6,4. V preglednici XIII so prikazane vse simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvajstnik ter simulacija pH v začetnem delu proksimalnega dela TČ.

Preglednica XIII: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovanja medija), s katerimi smo poskušali doseči ustrezno simulacijo hitrega dviga pH pri prehodu iz želodca v dvajstnik ter pH v proksimalnem delu TČ, pri visokem profilu. Poleg medija so navedeni časi dovanja. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G2.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Vd1	20mM HCl	90mM Na ₃ PO ₄	0 - 100s
Vd2		100mM Na ₃ PO ₄	0 - 100s
Vd3			0 - 103s
Vd4		110mM Na ₃ PO ₄	0 - 95s
Vd5			0 - 88s
Vd6		120mM Na ₃ PO ₄	0 - 97s
Vd7			0 - 95s
Vd8/a/b/c/d	Začetni medij		0 - 91s
Vd8/e			0 - 91s
Vd8/f			0 - 91s
			McIIP 6,4 (15×) Do 8 min
			McIIP 6,4 (15×) Do 10 min
			McIIP 6,4 (15×) Do 50 min

3.3.4.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ pri visokem profilu

Uporabljeni mediji, časi dovajanja medijev za simulacijo dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ pri simulaciji visokega profila so predstavljeni v preglednici XIV.

Preglednica XIV: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija), s katerimi smo poskušali doseči ustreznost simulacije dviga iz proksimalnega dela v distalni del TČ. Poleg medija so navedeni časi dovajanja. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIIIP-med medijem A (McIIIP 6,4 (15×)) in medijem B (McIIIP 8,1 (15×)). Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G2.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Vpd1	McIIIP 6,4 (15 ×) A Začetni medij	A:B= 3:1 0 – 15 min	McIIIP 8,1 (15×)-B 15 – 30 min
Vpd2/a/b	McIIIP 6,4 (15 ×) A Začetni medij	A:B=3:1 0 – 21min	McIIIP 8,1 (15×)-B 21 – 110 min

3.3.4.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona pri visokem profilu

V preglednici XV so predstavljeni vsi poskusi simulacije padca pH iz območja TČ v proksimalni del kolona pri visokem profilu.

Preglednica XV: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) za simulacijo prehoda iz distalnega dela TČ skozi ileocekalni sfinkter v proksimalni del kolona, pri visokem profilu. Poleg medija so navedeni časi dovajanja. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G2.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Vp1	McIIIP 8,1 (15×) Začetni medij	McIIIP 6,8 (15 ×) 0 – 20 min	McIIIP 6,4 (15 ×) 20 – 30 min
Vp2		McIIIP 4,8 (4×) 0 – 11 min	
Vp3		McIIIP 6,7 (15 ×) 0 – 30 min	
Vp4/a/b		McIIIP 6,5 (4×) 0 – 60 min	

3.3.4.4 Simulacija pH celotnega visokega profila

Vsi poskusi simulacije celotnega visokega profila so predstavljeni v preglednici XVI.

Preglednica XVI: V ustrezem zaporedju (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) so predstavljeni mediji za simulacijo celotnega visokega profila in njihov čas dovajanja. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIIIP-med medijem A (McIIIP 6,4 (15×)) in medijem B (McIIIP 8,1 (15×)). Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G2.

Oznaka poskusa	Medij					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Vc1	20 mM HCl začetni medij	120 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min31s	McIIIP 6,4 (15 ×)-A 1min31s – 70 min	A:B= 3:1 70 – 91 min	McIIIP 8,1 (15×)-B 91 – 240 min	McIIIP 6,5 (4×) 240 – 340 min
Vc2/ a/b/c	20 mM HCl začetni medij	120 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min31s	McIIIP 6,4 (15 ×)-A 1min31s – 78 min	A:B=3:1 78 – 99 min	McIIIP 8,1 (7×)-B 99 – 242 min	McIIIP 6,5 (4×) 242 – 340 min

3.3.5 Simulacija nizkega profila

3.3.5.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija proksimalnega dela TČ pri nizkem profilu

Kot začetni medij je bila uporabljena 30 mM raztopina HCl, ki je simulirala pH želodca z vrednostjo 1,8 in je bila uporabljena že v predhodni magistrski nalogi [24]. Naš cilj je bil, da

z ustreznou koncentracijo Na_3PO_4 dosežemo pH v dvanajstniku med 5,1 in 5,3. V preglednici XVII so predstavljeni vsi poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH v začetnem delu proksimalnega dela TČ.

Preglednica XVII: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija), s katerimi smo poskušali doseči ustrezeno simulacijo hitrega dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter pH v proksimalnem delu TČ, pri nizkem profilu. Poleg medija so navedeni časi dovajanja. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Nd1	30mM HCl Začetni medij	170mM Na_3PO_4	0 – 85s
Nd2			0 – 90s
Nd3			0 – 92s
Nd4			0 – 94s
Nd5			0 – 95s
Nd6			0 – 96s
Nd7		150 mM Na_3PO_4	0 – 107s
Nd8			0 – 110s
Nd9			0 – 96s
Nd10		160 mM Na_3PO_4	0 – 102s
Nd11/a,b			0 – 100s

3.3.5.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ pri nizkem profilu

Uporabljeni mediji, časi dovajanja medijev za simulacijo dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ pri simulaciji nizkega profila so predstavljeni v preglednici XVIII.

Preglednica XVIII: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija), s katerimi smo poskušali doseči ustrezeno simulacijo dviga iz proksimalnega dela v distalni del TČ, pri nizkem profilu. Poleg medija so navedeni časi dovajanja. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlP-med medijem A (McIlP 5,2 (8×)) in med medijem B (McIlP 6,6 (15×)). Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij				3.	
	1.	2.				
		A	B	Volumsko razmerje A:B		
Npd1	McIlP 5,2 (8×) začetni medij	McIlP 6,0 (15×)	McIlP 6,5 (4×)	1:3	0 – 18 min	
Npd2		McIlP 6,8 (15×)	McIlP 6,6 (15×)	2:1	0 – 14 min	
Npd3		McIlP 6,8 (15×)	McIlP 6,6 (15×)	1:3	0 – 14 min	
Npd4		McIlP 5,2 (8×)	McIlP 6,6 (15×)	1:5	0 – 14 min	
Npd5/a		McIlP 5,2 (8×)	McIlP 6,6 (15×)	1:7	0 – 18 min	
Npd5/b		McIlP 5,2 (8×)	McIlP 6,6 (15×)	1:7	0 – 33 min	

3.3.5.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v kolon pri nizkem profilu

V preglednici XIX so predstavljeni vsi poskusi simulacije padca pH iz območja TČ v proksimalni del kolona pri nizkem profilu.

Preglednica XIX: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) in njihovi časi dovajanja za simulacijo prehoda iz distalnega dela TČ skozi ileocekalni sfinkter v proksimalni del kolona, pri nizkem profilu. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Np1	McIlP 6,6 (15×) začetni medij	McIlP 4,8 (2×) 0 – 18 min	McIlP 5,2 (2×) 18 – 30 min
Np2		McIlP 4,8 (2×) 0 – 16 min	McIlP 5,2 (2×) 16 min – 45 min
Np3/a		McIlP 4,8 (2×) 0 – 30 min	
Np3/b		McIlP 4,8 (2×) 0 – 50 min	

3.3.5.4 Simulacija celotnega nizkega profila

Vsi poskusi simulacije celotnega nizkega profila so predstavljeni v preglednici XX.

Preglednica XX: V ustrezem zaporedju (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) so predstavljeni mediji za simulacijo celotnega nizkega profila in njihov čas dovajanja. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranima McIlP-med medijem A (McIlP 5,2 (8×)) in medijem B (McIlP 6,6 (15×)). Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij					
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Nc1	30 mM HCl začetni medij	160 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min50s	McIlP 5,2 (8×)-A 1min50s – 52 min	A:B=1:7 52 – 85 min	McIlP 6,6 (15×)-B 85 – 201 min	McIlP 4,8 (2×) 201 – 270 min
Nc2	30 mM HCl začetni medij	160 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min50s	McIlP 5,2 (8×)-A 1min50s – 62 min	A:B=1:7 62 – 95 min	McIlP 6,6 (15×)-B 95 – 201 min	McIlP 4,8 (2×) 201 – 270 min
Nc3/a,b,c	30 mM HCl začetni medij	160 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min50s	McIlP 5,2 (8×)-A 1min50s – 60 min	A:B=1:7 60 – 93 min	McIlP 6,6 (15×)-B 93 – 207 min	McIlP 4,8 (2×) 207 – 290 min

3.3.6 Simulacija srednjega profila

3.3.6.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ pri srednjem profilu

Kot začetni medij je bila uporabljena 50 mM raztopina HCl, ki je simulirala pH želodca z vrednostjo 1,6 in je bila uporabljena že v predhodni magistrski nalogi [24]. Za simulacijo dviga iz želodca v dvanajstnik smo uporabili 280 mM Na₃PO₄, ki smo jo dovajali 100 s, tako kot je bilo že izvedeno v predhodni diplomski nalogi [24]. Ob simulaciji prehoda v dvanajstnik smo želeli doseči pH približno 6,0, ki je bila enaka vrednosti pH tudi v proksimalnem delu TČ. Poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija začetnega del proksimalnega dela TČ pri srednjem profilu so predstavljeni v preglednici XXI.

Preglednica XXI: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija), s katerimi smo poskušali doseči ustrezno simulacijo hitrega dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter pH v proksimalnem delu TČ, pri srednjem profilu. Poleg medija so navedeni časi dovajanja in oznaka poskusa. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Sd1/a/b	50 mM HCl Začetni medij	280 mM Na ₃ PO ₄ 0 - 100s	McIlP 6,0 (10×) 100s – 15min

3.3.6.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

V srednjem profilu smo simulacijo iz proksimalnega dela v distalni del TČ zaradi lažje izvedbe razdelili na dva dela. Vsak posamezen del je simuliral postopen dvig pH do prvega platoja (želeli smo doseči pH približno 7,0) in dvig pH do drugega platoja (želeli smo doseči pH približno 7,5 – 7,6). V preglednici XXII so navedeni poskusi, ki smo jih uporabili pri simulaciji dviga pH do prvega platoja. V preglednici XXIII so prikazani mediji, ki smo jih uporabili pri simulaciji dviga pH do drugega platoja.

Dvig pH do prvega platoja:

Preglednica XXII: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) za simulacijo prvega platoja dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ, pri srednjem profilu. Poleg medija so navedeni tudi časi dovajanja in oznaka poskusa. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlP-med medijem A (McIlP 6,0 (10×)) in medijem B, ki je za vsak poskus McIlP z različno vrednostjo pH in redčitvijo. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij					3.	
	1.	2.					
		A	B	Volumsko razmerje A:B	Čas [min]		
Sppd1	McIlP 6,0 (10×) začetni medij	McIlP 6,0 (10×)	McIlP 7,7 (15×)	1:3	0 – 26 min	McIlP 7,0 (10×) 26 – 32 min	
Sppd2			McIlP 7,0 (10×)	1:3	0 – 16 min	McIlP 7,2 (10×) 16 – 34 min	
Sppd3			McIlP 7,2 (10×)	1:3	0 – 6 min	/	
Sppd4			McIlP 7,2 (10×)	2:3	0 – 20 min	McIlP 7,2 (10×) 20 – 34 min	
Sppd5			McIlP 7,2 (10×)	3:1	0 – 20 min	McIlP 7,2 (10×) 20 – 32 min	
Sppd6			McIlP 7,6 (10×)	1:3	0 – 17 min	McIlP 7,0 (10×) 17 – 30 min	
Sppd7/a/b			McIlP 7,0 (10×)	1:3	0 – 14 min	McIlP 7,0 (10×) 14 – 46 min	

Dvig pH do drugega platoja:

Preglednica XXIII: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) za simulacijo drugega platoja dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ, pri srednjem profilu. Poleg medija so navedeni tudi časi dovajanja in oznaka poskusa. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlP-med medijem A in medijem B, ki predstavlja McIlP z različno vrednostjo pH, za vsak poskus simulacije dviga pH. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij					3.	
	1.	2.					
		A	B	Volumsko razmerje A:B	Čas [min]		
Sdpd1	McIlP 7,0 (10×)	McIlP 7,0 (10×)	McIlP 7,7 (15×)	1:3	0 – 8 min	McIlP 7,6 (10×) 15 – 30 min	
Sdpd2		McIlP 7,0 (10×)	McIlP 7,7 (15×)	1:4	0 – 13 min		
Sdpd3		McIlP 8,1 (7×)	McIlP 7,6 (10×)	1:4	0 – 15 min		
Sdpd4/a/b		McIlP 8,1 (7×)	McIlP 7,6 (10×)	1:5	0 – 14 min		

3.3.6.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

Ciljna vrednost pH v kolonu je 6,5, ki pa lahko pade do 6,3, nižji pH ne želimo, zato je boljše, da potem rahlo narašča kot pada. Poskusi simulacije padca pH iz TČ v proksimalni del kolona so predstavljeni v preglednici XXIV.

Preglednica XXIV: Uporabljeni mediji (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) za simulacijo prehoda iz distalnega dela TČ skozi ileocekalni sfinkter v proksimalni del kolona, pri srednjem profilu. Poleg medija so navedeni časi dovajanja. Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij		
	1.	2.	3.
Sp1	McIlP 7,6 (10×) začetni medij	McIlP 4,8 (2×) 0 – 10 min	
Sp2		McIlP 5,5 (4×) 0 – 10 min	
Sp3/a/b		McIlP 5,2 (5,2×) 0 – 17 min	McIlP 6,5 (4×) 17 – 50 min

3.3.6.4 Simulacija celotnega srednjega profila

Vsi poskusi simulacije celotnega srednjega profila so predstavljeni v preglednici XXV.

Preglednica XXV: V ustrezem zaporedju (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) so predstavljeni mediji za simulacijo celotnega srednjega profila in njihov čas dovajanja. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIIIP-med medijem A (McII 6,0 (10×)) in medijem B (McII 7,0 (10×)), medij C:D predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIIIP-med medijem C (McII 8,1 (7×)) in medijem D (McII 7,6 (10×)). Vse simulacije smo izvajali na pretočnem sistemu z oznako G1.

Oznaka poskusa	Medij								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Sc1	50 mM HCl začetni medij	280 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min40s	McIIIP 6,0 (10×)-A 1min40s – 67 min	A:B=1:3 67 – 81 min	McIIIP 7,0 (10×)-B 81 – 108 min	C:B=1:4 C.... McIIIP 8,1 (7×) 108 – 126 min	McIIIP 7,6 (10×)-D 126 – 160 min		
Sc2/ a/b/c	50 mM HCl začetni medij	280 mM Na ₃ PO ₄ 0 – 1min40s	McIIIP 6,0 (10×)-A 1min40s– 67 min	A:B=1:3 67 – 83 min	McIIIP 7,0 (10×)-B 83 – 114 min	C:D=1:5 C.... McIIIP 8,1 (7×) 114 – 128 min	McIIIP 7,6 (10×)-D 128 – 188 min	McIIIP 5,2 (2×) 188 – 205 min	McII P 6,5 (4×) 205 – 280 min

3.3.7 Pufrska kapaciteta

Tekom simulacije profilov pH, smo se z ustreznimi pufri želeli čim bolje približati fiziološkim vrednostim pufrske kapacitete vzdolž GIT. Ciljne vrednosti pufrskih kapacetet so bile prevzete po predhodni magistrski nalogi [24], kjer so bile fiziološke vrednosti pufrskih kapacetet medijev poiskane v literaturi. Z izbiro ustreznih medijev, smo želeli doseči vrednosti pufrskih kapacetet v tankem črevesju med 4 in 8 mmol/L/ΔpH, v kolonu pa približno 15 mmol/L/ΔpH.

Pred merjenjem pufrske kapacetete smo medij v časi segreli na vodni kopeli na 37 °C, vključili magnetno mešalo in med neprestanim mešanjem dodajali 0,1 M HCl z avtomatsko pipeto (2-20 µL ali 20-200µL) ter merili pH s pH metrom, ki smo ga prehodno kalibrirali na pH=7. 0,1 M HCl smo dodajali dokler ni sprememb pH med začetno in končno vrednostjo znašala 0,2 enote. Pufrsko kapaceteto smo izračunali po enačbi 1:

$$\beta = \frac{c(HCl) * V(HCl) * 1000}{\Delta pH * (V + V(HCl))} \quad (\text{Eračba 1})$$

Eračba 1: Izračun pufrske kapacite: β – pufrska kapaceteta [mmol/l/ΔpH], c – koncentracija HCl [mol/l], $V(HCl)$ – volumen dodane HCl [µl], ΔpH – spremembra pH, V – volumen medija [µl]; povzeto po [25].

Pufrsko kapaceteto smo izmerili vsem posameznim medijem, ki smo jih uporabljali pri simulaciji celotnih profilov. Za meritev pufrske kapacetete posameznim medijem smo uporabili 40 ml medija.

V preglednici XXVI so predstavljeni vsi poskusi merjenja pufrske kapacetete medijev, ki so bili uporabljeni za simulacijo celotnega profila. Pri poskusih PKV/a, PKV/b, PKN/a, PKS/a smo pufrsko kapaceteto zbranih vzorcev merili pri bolj pogostih časovnih intervalih; ob menjavi medija na 5 min, nato 10 min in po daljšem času dovajanja medija na 20 min. S pogostejšim merjenjem smo želeli natančno spremljati vpliv uporabljenega medija na

vrednost pufrske kapacitete. Pri poskusih PKV/c, PKV/d, PKN/b, PKN/c, PKS/b in PKSc smo prvi dve frakciji odvzeli pri časovnem intervalu 10 min, vse nadaljnje frakcije pa pri 20 min. Frakcije smo zbirali v merilni valj, v časovnih intervalih med 5 in 20 min, zato so volumni zbranih frakcij znašali od 10 ml do 40 ml.

Preglednica XXVI: Prikaz oznake poskusov merjenja pufrske kapacitete med simulacijo profilov pH.

VISOK PROFIL	Oznaka poskusa celotne simulacije profila	Oznaka poskusa merjenja pufrske kapacitete	NIZEK PROFIL	Oznaka poskusa celotne simulacije profila	Oznaka poskusa merjenja pufrske kapacitete	SREDNJI PROFIL	Oznaka poskusa celotne simulacije profila	Oznaka poskusa merjenja pufrske kapacitete
Vc1	PKV/a			Nc3/a	PKN/a		Sc2/a	PKS/a
Vc2/a	PKV/b			Nc3/b	PKN/b		Sc2/b	PKS/b
Vc2/b	PKV/c			Nc3/c	PKN/c		Sc2/c	PKS/c
Vc2/c	PKV/d							

3.3.8 Umeritvene premice za določanje koncentracije sproščenega Na-DF

Za vsak medij, ki smo ga uporabili pri sproščanju Na-DF, smo določili umeritveno premico. Iz njene enačbe smo na osnovi izmerjene absorbance vzorca izračunali koncentracijo Na-DF in to vrednost uporabili pri izračunu sproščenega Na-DF iz tablete. Mediji, ki smo jih uporabili pri izdelavi umeritvenih premic so navedeni v preglednici XXVII.

Preglednica XXVII: Seznam medijev, ki smo jih uporabili za pripravo mešanice z 0,1 M NaOH v razmerju 1:1, so predstavljeni v spodnji preglednici. Pripravljenim mešanicam smo določili umeritveno premico. Poleg McIlP so v preglednici navedene vrednosti pH in redčitve pufra.

Mediji redčeni z 0,1 M NaOH v razmerju 1:1		
McIlP 6,4 (15×)	30 mM HCl	50 mM HCl
McIlP 8,1 (7×)	McIlP 5,2 (8×)	McIlP 6,0 (10×)
McIlP 6,5 (4×)	McIlP 6,6 (15×)	McIlP 7,6 (10×)
	McIlP 4,8 (2×)	McIlP 6,5 (4×)

Pripravili smo mešanico ustreznega pufra ali HCl in 0,1 M NaOH v razmerju 1:1 in z njo pripravili vse nadaljnje raztopine Na-DF različnih koncentracij. Približno natančno smo natehtali 10 mg Na-DF v čolničke, ga kvantitativno prenesli v bučke in dopolnili z mešanico 0,1 M NaOH in pufra ali HCl do oznake. To so bile osnovne raztopine, s približno koncentracijo 100 mg/l, ki smo jih v nadalnjem postopku ustrezno redčili, da smo imeli raztopine s približnimi koncentracijami: 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 in 40 mg/l. Tudi te raztopine smo dopolnili do oznake z mešanico 0,1 M NaOH in ustreznega pufra ali HCl. Vsem pripravljenim devetim raztopinam smo izmerili absorbance pri valovni dolžini 276 in 400 nm. Pri valovni dolžini 276 nm ima Na-DF absorpcijski maksimum, merjenje pri absorbanci 400 nm pa je služilo kot kontrola.

Iz odvisnosti absorbance od koncentracije raztopine ZU smo s pomočjo linearne regresije dobili enačbo umeritvene premice ter Pearsonov koeficient korelacije (R^2). Za vse medije smo izvedli umeritvene premice po enakem postopku.

Umeritveno premico v mešanici 30 mM HCl in NaOH smo uporabili tudi pri sproščanju, kjer smo kot medij uporabili 20 mM HCl.

3.3.9 Izdelava tablet

Pripravili smo ogrodne tablete oznake H in HL z Na-DF, ki so vsebovale hidroksipropil metilcelulozo – HPMC (tvori hidrofilni ogrodni sistem, skozi katerega se sprošča ZU v obliki podaljšanega sproščanja), magnezijev stearat (preprečuje lepljenje delcev na pečate tabletirke ter zmanjšuje trenje med delci in steno tabletirke), vrsti HL pa je bila dodana še laktosa monohidrat (polnilo). Dobro premešano tabletno zmes smo zatehtali po 400 mg na tehtalne čolničke. Tablete smo stisnili s tabletirko na udarec Kilian SP300. Sestava tablet H in HL ter pogoji izdelave tablet so predstavljeni v preglednici XXVIII.

Preglednica XXVIII: Sestava tablet in pogoji izdelave za obe vrsti tablet.

Oznaka vrste tablete	H	HL
Sestava	25 % Na-DF	25 % Na-DF
	75 % Metolose 90SH-4000 SR (HPMC)	35 % Metolose 90SH-4000SR (HPMC)
	0,25 % magnezijev stearata (glede na celotno maso)	39,5 % laktosa monohidrat
		0,5 % magnezijev stearat
Pogoji izdelave	Sila stiskanja	8,0 – 8,8 kN
	Trdnost tablete	110 – 120 N
	Nastavitev zgornjega pečata	9,9 mm
	Nastavitev spodnjega pečata	12,4 mm

3.3.10 Poskusi sproščanja

Po uspešno izdelani celotni simulaciji profilov pH in dobri ponovljivosti paralelk ter ustreznosti pufrske kapacitete smo začeli s sproščanjem tablet. Sproščanje smo izvedli na enakih pretočnih sistemih kot simulacijo profilov pH - G2, G1, le da je bil pri enem poskusu sproščanja dodan še pretočni sistem z oznako A1. Pretočni sistem in celotni sistem smo pripravili na enak način kot za simulacijo profilov pH, razlika je bila le v tem, da v delovni časi ni bila potopljena elektroda pH metra, saj bi predstavljala oviro in motila gibljivost tablete. Prišlo bi lahko do sprememb hitrosti sproščanja ZU, zaradi poškodbe tablete. Pred začetkom poskusa smo tableto stehtali na analitski tehnicici, jo dali v delovno časo in zagnali pretočni sistem s pretokom medija 2 ml/min ter štoparico. 40 ml vzorca smo zbirali v merilni valj, v katerega smo predhodno nalili 40 ml 0,1 M NaOH. Merilne valje z vzorci smo menjavali vsakih 20 min, kar pomeni, da je bil končni volumen v merilnem valju 80 ml.

3.3.10.1 Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo profil pH

Poskuse sproščanja smo izvedli z zaporednim dovajanjem medijev, s katerimi smo simulirali profile pH. Pri vseh treh simuliranih profilih smo sproščanje izvedli z obema vrstama tablet, v vsaj treh paralelkah, ki so morale biti med seboj dobro ponovljive. Poskusi sproščanj pri visokem profilu so predstavljeni v preglednici XXIX, pri nizkem profilu v preglednici XXX in pri srednjem profilu v preglednici XXXI.

Preglednica XXIX: V ustremnem zaporedju (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) so predstavljeni mediji za simulacijo celotnega visokega profila in njihov čas dovajanja. Navedena je tudi oznaka poskusa in pretočni sistem, na katerem se je izvajal poskus.

Oznaka poskusa	Pretočni sistem	Medij					
		1.	2.	3.	4.	5.	6.
VsH/a	G2						
VsH/b	G1						
VsH/c	G2						
VsHL/a	G2	20 mM HCl 0 – 22 min	120 mM Na ₃ PO ₄ 22 – 23 min 31s	McIlP 6,4 (15×)-A 23 min31s – 99 min	A:B=3:1 99 – 121 min	McIlP 8,1 (15×)-B 121 – 264 min	McIlP 6,5 (4×) 264 – 380 min
VsHL/b	G1						
VsHL/c	G1						
VsHL/d	A1	20 mM HCl 0 – 22 min	120 mM Na ₃ PO ₄ 22 – 23 min 31s	McIlP 6,4 (15×)-A 23 min31s – 99 min	A:B=3:1 99 – 121 min	McIlP 8,1 (15×)-B 121 – 264 min	McIlP 6,5 (4×) 264 – 600 min

Preglednica XXX: V ustremnem zaporedju (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) so predstavljeni mediji za simulacijo celotnega nizkega profila in njihov čas dovajanja. Navedena je tudi oznaka poskusa in pretočni sistem, na katerem se je izvajal poskus.

Oznaka poskusa	Pretočni sistem	Medij					
		1.	2.	3.	4.	5.	6.
NsH/a	G2						
NsH/b	G2						
NsH/c	G2						
NsH/d	G2	30 mM HCl 0 – 52 min	160 mM Na ₃ PO ₄ 52 min – 53min 40s	McIlP 5,2 (8×)-A 53 min40s – 112 min	A:B=1:7 112 – 145 min	McIlP 6,6 (15×)-B 145 – 259 min	McIlP 4,8 (2×) 259 – 400 min
NsHL/a	G2						
NsHL/b	G1						
NsHL/c	G1						
NsHL/d	G1	30 mM HCl 0 – 52 min	160 mM Na ₃ PO ₄ 52 min – 53min 40s	McIlP 5,2 (8×)-A 53 min40s – 112 min	A:B=1:7 112 – 145 min	McIlP 6,6 (15×)-B 145 – 259 min	McIlP 4,8 (2×) 259 – 600 min

Preglednica XXXI: V ustremnem zaporedju (navedene so zaporedne številke dovajanja medija) so predstavljeni mediji za simulacijo celotnega srednjega profila in njihov čas dovajanja. Navedena je tudi oznaka poskusa in pretočni sistem, na katerem se je izvajal poskus.

Oznaka poskusa	Pretočni sistem	Medij					
		1.	2.	3.	4.	5.	6.
SsH/a	G1	50mM HCl 0 – 104 min	280 mM Na ₃ PO ₄ 104 – 105 min 40s	McIlP 6,0 (10×)-A 105 min 40s – 171 min	A:B=1:3 171 – 187 min	McIlP 7,0 (10×)-B 187 – 218 min	C:D= 1:5 218 – 232 min C=McIlP 8,1 (7×)
SsH/b	G1						
SsH/c	G2						
SsH/d	G1						
SsH/e	G1						
SsH/f	G1	7.	8.	9.			
SsH/g	G2	McIlP 7,6 (10×)-D 232 – 292 min	McIlP 5,2 (2×) 292 – 309 min	McIlP 6,5 (4×) 309 – 420 min			
SsHL/a	G2						
SsHL/b	G1						
SsHL/c	G1						
SsHL/d	G2	1.	2.	3.	4.	5.	6.
		50mM HCl 0 – 104 min	280 mM Na ₃ PO ₄ 104 – 105 min 40s	McIlP 6,0 (10×)-A 105 min 40s – 171 min	A:B=1:3 171 – 187 min	McIlP 7,0 (10×)-B 187 – 218 min	C:D= 1:5 218 – 232 min C=McIlP 8,1 (7×)
		7.	8.	9.			
		McIlP 7,6 (10×)-D 232 – 292 min	McIlP 5,2 (2×) 292 – 309 min	McIlP 6,5 (4×) 309 – 600 min			

3.3.10.2 Priprava vzorcev

Vzorec, zbran v merilnem valju, smo prelili v 100 ml čašo, premešali s stekleno palčko. Brizgo smo napolnili z vzorcem, filtrirali skozi filter iz regenerirane celuloze z velikostjo por 0,45 µm ter približno 10 ml filtrata zbirali v epruveti. Posamezne vzorce smo prelili v kiveto in jih analizirali na spektrofotometru pri valovnih dolžinah 276 in 400 nm. Kot slepo raztopino smo uporabili mešanico 0,1 M NaOH in ustreznega pufra, v razmerju 1:1. Ustrezni pufer za slepo raztopino smo izbrali glede na uporabljen pufer pri simulaciji profila pH pri časovni točki odvzema vzorca. Kadar so bile absorbance pri 276 nm večje od 1,4 smo vzorce 5-kratno redčili. V novo epruveto smo odpipetirali 600 µl vzorca in 2400 µl mešanice 0,1 M NaOH in ustreznega pufra, ki sta bila v razmerju 1:1 ter vsebino premešali na vorteksu in potem vzorcu ponovno pomerili absorbanco.

3.3.10.3 Izračun deleža sproščene ZU

Delež sproščene ZU smo izračunali s pomočjo enačb 2 – 5, ki so predstavljene v nadaljevanju. Vrednosti absorbanc smo vnesli v enačbo umeritvenih premic in izračunali koncentracijo sproščene ZU po enačbi 2.

$$c = \frac{A + n}{k} \quad (\text{Eqačba } 2)$$

Enačba 2: c – koncentracija sproščene ZU [mg/l], A – absorbanca analiziranega vzorca, n – odsek na ordinati umeritvene premice, k – naklon umeritvene premice.

S pomočjo vrednosti koncentracije sproščene ZU smo izračunali maso sproščene ZU v vsaki časovni točki (enačba 3), nato pa še izračunali kumulativno maso ZU v vsaki časovni točki (enačba 4) ter % sproščene ZU v vsaki časovni točki (enačba 5).

$$m(\text{zu})_n = \frac{c_n}{1000 * V} \quad (\text{Eqačba } 3)$$

Enačba 3: m(ZU)_n – masa sproščene ZU v časovni točki v n-tem vzorcu [mg], c – koncentracija sproščene ZU v n-tem vzorcu [mg/l], V – volumen zbranega vzorca [ml], n – zaporedna številka vzorca

$$m(\text{kumul.})_n = m(\text{ZU})_n + [m(\text{ZU})_{n-1} + m(\text{ZU})_{n-2} + \dots + m(\text{ZU})_{n_0}] \quad (\text{Eqačba } 4)$$

Enačba 4: m(kumul.)_n – kumulativna masa sproščene ZU v n-tem vzroku [mg], m(ZU)_n – masa sproščene ZU v časovni točki v n-tem vzorcu [mg], m(ZU)_{n-1} – masa sproščene ZU v časovni točki v predhodnem vzorcu, m(ZU)_{n_0} – masa sproščene ZU v začetnem vzorcu, n – zaporedna številka vzorca

$$\% \text{ sproščene ZU}_n = \frac{m(\text{kumul.})_n}{w * m(\text{tbl.})} * 100 \quad (\text{Eqačba } 5)$$

Enačba 5: % sproščene ZU – % sproščene ZU v analiziranem n-tem vzorcu, m(kumul.)_n – kumulativna masa sproščene ZU v n-tem vzorcu [mg], w – masni delež ZU v tablet, m(tbl.) – masa suhe tablete, pred začetkom izvajanja procesa sproščanja [mg], n – zaporedna številka vzorca

4 Rezultati

Predstavili bomo rezultate, ki smo jih pridobili tekom raziskovanja. Rezultati prikazujejo simulacijo treh profilov pH, podatke o pufrski kapaciteti, pripravo umeritvenih premic in poskuse sproščanja. Ustreznost in pomen rezultatov sta predstavljeni v razpravi.

4.1 Simulacija profilov pH

Rezultate simulacije profilov pH bomo predstavili v treh delih, ker smo simulirali tri različne profile pH. Od vsakega profila pH bodo rezultati razdeljeni na štiri dele, tako kot je potekala simulacija razvoja profila pH. Časi poskusov simulacije posameznih delov v preglednicah XXXII – XLIV se razlikujejo, ker niso bili vsi poskusi ustrezni in smo jih zaključili predčasno. Ustrezne poskuse simulacije posameznih delov profila pH smo simulirali v dveh paralelkah in so v preglednicah predstavljeni s krepko pisavo.

4.1.1 Visok profil

4.1.1.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ

V preglednici XXXII so predstavljeni poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ.

Preglednica XXXII: Prikazani so rezultati dviga pH pri prehodu iz območja želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ, med simulacijo visokega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH												
	Vd1	Vd2	Vd3	Vd4	Vd5	Vd6	Vd7	Vd8/a	Vd8/b	Vd8/c	Vd8/d	Vd8/e	Vd8/f
0	1,95	1,98	1,97	1,96	1,97	1,97	1,96	1,87	1,88	1,85	1,85	1,88	1,88
0,5	1,95	1,98	1,97	1,96	1,97	1,97	1,96	1,87	1,88	1,85	1,85	1,88	1,88
1	1,95	1,98	1,97	1,96	1,97	1,97	1,96	1,87	1,88	1,85	1,85	1,88	1,88
1,5	1,95	1,98	1,97	1,96	1,97	1,97	1,96	1,87	1,88	1,85	1,85	1,88	1,88
2	1,95	1,98	1,97	1,96	2,01	1,97	1,96	1,87	1,88	1,85	1,85	1,88	1,88
2,5	1,96	1,98	1,97	1,98	2,07	2,03	2,05	1,88	1,88	1,85	1,87	2,01	2,03
3	1,98	2,01	2,00	2,13	2,24	2,2	2,25	2,03	2,01	1,99	2,01	2,29	2,28
3,5	2,1	2,14	2,21	2,38	2,37	2,64	2,65	2,33	2,29	2,28	2,33	3,12	3,11
4	2,3	2,36	2,56	2,62	2,48	5,93	3,37	3,07	3,12	2,88	/	3,78	3,80
4,5	2,42	2,45	3,93	2,88	2,65	6,48	5,87	4,32	3,78	3,52	3,38	4,76	4,77
5	2,48	2,55	6,17	3,2	2,85	6,48	6,28	5,32	4,76	4,31	3,77	5,31	5,30
5,5	2,54	2,64	/	3,93	2,97	6,49	/	5,60	5,31	5,19	4,26	5,56	5,58
6	2,64	2,72	/	5,67	3,15	/	/	5,73	5,56	5,50	4,88	5,69	5,71
6,5	2,75	2,82	/	/	3,25	/	/	5,80	5,69	5,71	5,10	5,78	5,77
7	2,83	2,92	/	/	3,42	/	/	5,78	5,77	5,30	5,85	5,84	
7,5	2,97	3,03	/	/	3,71	/	/	5,89	5,85	5,84	5,40	5,92	5,91
8	3,05	3,15	/	/	4,15	/	/	/	5,92	5,91	/	5,96	5,97
8,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	5,99	5,99
9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,04	6,03
10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,08	6,06
12	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,10
14	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,13
16	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,17
18	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,20
20	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,24
22	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,29
24	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,31
26	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,34
28	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,37
30	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,39
35	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,42
40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,44
45	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,45
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,46

4.1.1.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

V preglednici XXXIII so predstavljeni poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ.

Preglednica XXXIII: Prikazani so rezultati simulacije prehoda iz proksimalnega dela TČ v distalni del TČ, med simulacijo visokega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH			Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)		
	Vpd1	Vpd2/a	Vpd2/b		Vpd1	Vpd2/a	Vpd2/b
0	6,38	6,38	6,38	23	6,94	6,72	6,74
1	6,38	6,39	6,38	24	6,99	/	6,8
2	6,38	6,39	6,39	25	7,02	/	6,86
3	6,40	6,4	6,4	27	7,09	/	6,95
4	6,41	6,42	6,43	28	7,13	6,98	/
5	6,43	6,44	6,44	29	7,17	/	7,05
6	6,46	6,47	6,46	30	7,21	7,08	7,09
7	6,48	6,49	/	32	7,25	7,15	7,14
8	6,49	/	6,50	34	7,34	7,21	7,20
9	6,51	/	6,52	36	7,36	7,26	7,27
10	6,53	6,54	6,55	38	7,43	7,31	7,34
11	6,55	6,56	6,56	40	7,47	7,37	7,38
12	6,56	6,57	6,57	45	7,58	7,50	7,53
13	6,57	6,59	6,58	50	7,64	7,57	7,59
14	6,58	/	6,59	55	/	7,67	7,66
15	6,61	6,61	6,61	60	/	7,73	7,75
16	6,61	6,62	6,62	70	/	7,84	7,83
17	6,62	6,63	/	90	/	7,95	7,96
18	6,64	6,64	6,64	100	/	7,99	7,99
19	6,71	6,65	6,65	110	/	8,01	8,01
20	6,81	6,66	6,66	120	/	8,02	8,04
21	/	6,68	6,67	140	/	8,04	8,05
22	6,92	6,69	6,69	160	/	8,06	8,06

4.1.1.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

V preglednici XXXIV so predstavljeni poskusi simulacije padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona.

Preglednica XXXIV: Prikazani so rezultati simulacije padca pH iz TČ v proksimalni del kolona, med simulacijo visokega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH						Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)	
	Vp1	Vp2	Vp3/a	Vp3/b	Vp4/a	Vp4/b		Vp4/a	Vp4/b
0	8,07	8,03	8,04	8,04	8,05	8,03	32	6,75	6,76
1	8,07	8,04	8,04	8,04	8,05	8,03	34	6,73	6,74
2	8,07	7,74	/	8,02	8,04	8,02	36	6,70	6,71
3	8,04	7,44	7,93	7,88	7,87	7,88	38	6,69	6,68
4	7,94	/	7,83	7,82	7,75	7,73	40	6,67	6,67
5	7,83	7,06	7,74	7,73	7,67	7,61	42	6,65	6,65
6	7,75	6,92	7,67	/	7,55	7,53	44	6,64	6,63
7	7,69	6,85	7,6	7,59	7,48	7,46	46	6,62	6,61
8	7,62	6,82	7,54	7,53	7,41	7,37	48	6,61	6,61
9	7,57	/	7,49	7,49	7,35	7,32	50	6,60	6,60
10	7,52	/	7,44	7,45	7,3	7,27	52	6,59	6,59
12	/	/	7,38	7,36	7,19	7,18	54	6,58	6,58
14	7,35	/	7,31	7,28	7,12	7,08	56	6,57	6,57
16	7,29	/	7,24	7,24	7,05	7,04	58	6,56	6,55
18	7,24	/	7,18	7,17	6,99	6,99	60	6,56	6,54
20	7,19	/	7,12	7,10	6,95	6,93			
22	7,15	/	7,02	7,05	6,93	6,9			
24	7,11	/	6,98	7,01	6,88	6,86			
26	7,06	/	6,95	6,97	6,83	6,81			
28	7,01	/	6,91	6,93	6,79	6,79			
30	6,98	/	6,84	6,86	6,78	6,77			

4.1.1.4 Simulacija celotnega visokega profila

V preglednici XXXV so predstavljeni poskusi simulacije celotnega visokega profila pH.

Preglednica XXXV: Prikazani so rezultati simulacije celotnega visokega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Navedeno je tudi povprečje (povp.) Vc2 paralelki in RSD vrednosti. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH				Povp. Vc2	RSD [%]	Čas [min]	pH(nadaljevanje preglednice)				Povp. Vc2	RSD [%]
	Vc1	Vc2/a	Vc2/b	Vc2/c				Vc1	Vc2a	Vc2/b	Vc2/c		
0	1,90	1,88	1,90	1,90	1,89	0,61	95	7,06	6,92	6,90	6,91	6,91	0,14
1	1,90	1,88	1,90	1,90	1,89	0,61	96	7,15	6,94	6,93	6,93	6,93	0,08
2	1,93	1,89	1,95	1,92	1,92	1,56	97	7,21	6,96	6,95	6,95	6,95	0,08
2,5	2,05	2,03	2,01	2,03	2,02	0,57	98	7,25	6,97	6,97	6,96	6,97	0,08
3	2,36	2,33	2,29	2,33	2,32	1,00	99	7,30	6,99	6,98	6,98	6,98	0,08
3,5	3,11	3,07	3,12	3,07	3,09	0,94	100	7,32	6,99	7,00	6,99	6,99	0,08
4	4,17	4,32	3,98	4,35	4,22	4,87	101	7,38	7,00	7,01	7,01	7,00	0,08
4,5	5,14	5,32	4,76	5,34	5,14	6,41	102	7,48	7,04	7,03	7,04	7,04	0,08
5	5,49	5,60	5,31	5,61	5,51	3,09	103	7,49	7,09	7,10	7,11	7,10	0,14
5,5	5,70	5,73	5,56	5,74	5,68	1,78	104	7,55	7,13	7,16	7,14	7,14	0,21
6	5,77	5,80	5,78	5,79	5,79	0,17	105	7,59	7,19	7,21	7,19	7,20	0,16
6,5	5,79	5,82	5,80	/	5,81	0,24	106	7,63	7,25	7,26	7,25	7,25	0,08
7	5,90	5,89	5,85	5,90	5,88	0,45	107	7,66	7,30	7,30	7,31	7,30	0,08
7,5	5,93	5,94	5,92	5,92	5,93	0,19	108	7,68	7,36	7,36	7,37	7,36	0,08
8	5,97	5,97	5,96	5,98	5,97	0,17	112	7,75	7,48	7,50	7,48	7,49	0,15
8,5	5,99	5,99	5,99	5,99	5,99	0,00	114	7,78	7,55	7,53	7,56	7,55	0,20
9	6,03	6,02	6,02	6,01	6,02	0,10	116	7,80	7,59	7,59	7,59	7,59	0,00
9,5	6,05	6,04	6,04	6,04	6,04	0,00	118	7,82	7,64	7,62	7,64	7,63	0,15
10	6,08	6,06	6,08	6,06	6,07	0,19	120	7,84	7,67	7,64	7,66	7,66	0,20
12	6,14	6,14	6,14	6,15	6,14	0,09	122	7,86	7,70	7,68	7,70	7,69	0,15
14	6,19	6,17	6,18	6,17	6,17	0,09	124	7,88	7,73	7,72	7,72	7,72	0,07
16	6,23	6,22	6,22	6,22	6,22	0,00	126	7,91	7,76	7,75	7,76	7,76	0,07
18	6,27	6,25	6,25	6,26	6,25	0,09	128	7,92	7,79	7,79	7,80	7,79	0,07
20	6,30	6,28	6,29	6,29	6,29	0,09	130	7,93	7,81	7,81	7,80	7,81	0,07
22	6,33	6,31	6,30	6,30	6,30	0,09	132	7,94	7,82	7,82	7,81	7,82	0,07
24	6,34	6,35	6,33	6,32	6,33	0,24	134	7,95	7,85	7,84	7,85	7,85	0,07
26	6,35	6,37	6,34	6,34	6,35	0,27	136	7,96	7,87	7,86	7,87	7,87	0,07
28	6,37	6,39	6,34	6,38	6,37	0,42	138	7,99	7,89	7,88	7,89	7,89	0,07
30	6,39	6,40	6,35	6,40	6,38	0,45	140	8,00	7,91	7,89	7,91	7,90	0,15
35	6,43	6,44	6,39	6,42	6,42	0,39	145	8,02	7,95	7,93	7,92	7,93	0,19
40	6,45	6,45	6,41	6,43	6,43	0,59	150	8,04	7,96	7,95	7,93	7,95	0,19
45	6,46	6,45	6,43	6,44	6,44	0,16	155	8,05	7,98	7,97	7,99	7,98	0,13
50	6,47	6,46	6,44	6,45	6,45	0,16	160	8,06	8,00	7,99	7,99	7,99	0,07
55	6,47	6,47	6,45	6,46	6,46	0,15	165	8,08	8,00	8,00	8,00	8,00	0,00
60	6,48	6,48	6,47	6,47	6,47	0,09	170	8,09	8,01	8,01	8,00	8,01	0,07
70	6,48	6,49	6,48	6,48	6,48	0,09	175	8,09	8,02	8,02	8,01	8,02	0,07
71	6,48	/	/	/	/	/	180	8,10	8,03	8,02	8,02	8,02	0,07
72	6,49	/	/	/	/	/	190	8,10	8,05	8,03	8,02	8,03	0,19
73	6,51	/	/	/	/	/	200	8,10	8,05	8,03	8,03	8,04	0,14
74	6,55	/	/	/	/	/	210	8,11	8,05	8,03	8,04	8,04	0,12
75	6,59	/	/	/	/	/	220	8,12	8,05	8,03	8,04	8,04	0,12
76	6,62	/	/	/	/	/	223	8,14	/	/	/	/	/
77	6,66	/	/	/	/	/	224	8,14	/	/	/	/	/
78	6,70	6,49	6,48	6,48	6,48	0,09	225	7,91	/	/	/	/	/
79	6,75	6,49	6,49	6,48	6,49	0,09	226	/	/	/	/	/	/
80	6,77	6,52	6,50	6,51	6,51	0,15	227	7,73	/	/	/	/	/
81	6,79	6,54	6,52	6,52	6,53	0,18	228	7,65	/	/	/	/	/
82	6,80	6,57	6,56	6,55	6,56	0,15	229	7,53	/	/	/	/	/
83	6,81	6,60	6,59	6,60	6,60	0,09	230	7,47	8,05	8,03	8,04	8,04	0,12
84	6,84	6,64	6,63	6,63	6,63	0,09	231	7,39	/	/	/	/	/
85	6,86	6,67	6,65	6,67	6,66	0,17	232	7,29	/	/	/	/	/
86	6,87	6,70	6,70	6,70	6,70	0,00	233	7,23	/	/	/	/	/
87	6,91	6,74	6,73	6,74	6,74	0,09	234	7,16	/	/	/	/	/
88	6,92	6,76	6,75	6,76	6,76	0,09	235	7,12	/	/	/	/	/
89	6,92	6,79	6,77	6,78	6,78	0,15	236	7,07	/	/	/	/	/
90	6,94	6,81	6,80	6,81	6,80	0,08	237	/	/	/	/	/	/
91	6,94	6,83	6,82	6,82	6,82	0,08	238	7,02	/	/	/	/	/
92	6,95	6,86	6,85	6,85	6,85	0,08	239	6,99	/	/	/	/	/
93	6,96	6,88	6,87	6,87	6,87	0,08	240	6,96	8,05	8,03	8,05	8,04	0,14
94	6,99	6,90	6,89	6,89	6,89	0,08	242	6,93	8,05	8,03	8,05	8,04	0,14

Čas [min]	Nadaljevanje preglednice XXXV												
	pH				Povp. Vc2	RSD [%]	Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)				Povp. Vc2	RSD [%]
	Vc1	Vc2/a	Vc2/b	Vc2/c				Vc1	Vc2/a	Vc2/b	Vc2/c		
243	/	8,05	8,03	8,04	8,04	0,12	274	/	6,75	6,74	6,73	6,74	0,15
244	6,90	8,04	8,02	7,87	7,98	1,16	276	/	6,73	6,71	6,70	6,71	0,23
245	/	7,87	7,88	7,75	7,83	0,92	278	/	6,70	6,68	6,70	6,69	0,17
246	6,85	7,75	7,73	7,67	7,72	0,54	284	/	/	6,64	6,64	6,64	0,00
247	/	7,67	7,61	7,55	7,61	0,79	286	/	6,64	6,61	6,62	6,62	0,23
248	6,82	7,55	7,53	7,48	7,52	0,48	288	/	6,62	6,61	6,61	6,61	0,09
249	/	7,48	7,46	7,41	7,45	0,48	290	/	6,61	6,60	6,60	6,60	0,09
250	6,79	7,41	7,37	7,35	7,38	0,41	292	/	6,60	6,59	6,59	6,59	0,09
251	/	7,35	7,32	7,32	7,33	0,24	294	/	6,59	6,58	6,59	6,59	0,09
252	6,76	7,30	7,27	7,24	7,27	0,41	296	/	6,58	6,57	6,57	6,57	0,09
253	/	7,24	7,22	7,19	7,22	0,35	298	/	6,56	6,56	6,56	6,56	0,00
254	6,73	7,19	7,18	7,16	7,18	0,21	300	/	6,55	6,55	6,55	6,55	0,00
255	/	7,16	7,13	7,12	7,14	0,29	302	/	6,55	6,55	6,54	6,55	0,09
256	6,70	7,12	7,08	7,05	7,10	0,28	304	/	6,54	6,54	6,54	6,54	0,00
257	/	7,06	7,06	7,06	7,06	0,00	306	/	6,54	6,54	6,54	6,54	0,00
258	/	7,00	7,00	7,01	7,00	0,08	308	/	6,53	6,53	6,53	6,53	0,00
259	/	6,98	6,99	6,98	6,98	0,08	310	/	6,52	6,53	6,53	6,53	0,09
260	/	6,96	6,97	6,95	6,96	0,14	315	/	6,52	6,52	6,52	6,52	0,00
262	/	6,93	6,93	6,93	6,93	0,00	320	/	6,51	6,51	6,51	6,51	0,00
264	/	6,89	6,88	6,90	6,89	0,15	325	/	6,50	6,50	6,50	6,50	0,00
266	/	/	6,86	6,83	6,85	0,31	330	/	6,50	6,50	6,50	6,50	0,00
268	/	6,83	6,81	6,79	6,81	0,29	335	/	6,50	6,50	6,50	6,50	0,00
270	/	6,79	6,79	6,78	6,79	0,09	340	/	6,50	6,50	6,50	6,50	0,00
272	/	6,78	6,76	6,75	6,76	0,23							

4.1.2 Nizek profil

4.1.2.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ pri nizkem profilu

V preglednici XXXVI so predstavljeni poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ.

Preglednica XXXVI: Prikazani so rezultati dviga pH pri prehodu iz območja želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ, med simulacijo nizkega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH											
	Nd1	Nd2	Nd3	Nd4	Nd5	Nd6	Nd7	Nd8	Nd9	Nd10	Nd11/a	Nd11/b
0	1,81	1,81	1,81	1,76	1,76	1,79	1,78	1,78	1,77	1,84	1,78	1,80
0,5	1,81	1,81	1,81	1,76	1,76	1,79	1,78	1,78	1,77	1,84	1,78	1,80
1	1,81	1,81	1,81	1,76	1,76	1,79	1,78	1,78	1,77	1,84	1,78	1,80
1,5	1,81	1,81	1,81	1,76	1,76	1,79	1,78	1,78	1,77	1,84	1,78	1,80
2	1,82	1,81	1,81	1,76	1,76	1,88	1,78	1,78	1,77	1,84	1,78	1,81
2,5	1,9	1,88	1,88	/	1,84	2,11	1,86	1,85	1,77	1,87	1,87	1,88
3	2,18	2,23	2,15	2,15	2,08	3,14	2,06	1,97	1,85	1,93	2,15	2,14
3,5	2,33	2,68	2,75	2,70	2,72	4,84	2,44	2,22	/	2,10	2,74	2,73
4	2,69	3,09	3,18	3,29	3,4	5,12	3,24	2,80	2,1	2,9	3,59	3,61
4,5	2,86	3,30	/	3,48	4,69	5,25	3,83	4,37	2,65	5,17	4,22	4,20
5	3,08	3,52	/	3,82	5	5,26	4,31	4,93	4,1	5,39	4,77	4,78
5,5	/	/	/	/	5,17	/	4,65	5,17	4,21	/	4,97	4,97
6	3,63	/	/	/	5,23	5,36	4,84	/	4,39	/	5,06	5,05
6,5	/	4,04	/	/	5,3	/	/	/	4,55	/	5,12	5,13
7	/	/	/	/	5,32	/	/	/	4,67	/	5,18	5,19
7,5	/	/	/	/	5,35	/	/	/	/	/	5,18	5,19
8	/	/	/	/	/	/	/	/	4,86	/	5,18	5,19

4.1.2.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

V preglednici XXXVII so predstavljeni poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ.

Preglednica XXXVII: Prikazani so rezultati simulacije prehoda iz proksimalnega dela TČ v distalni del TČ, med simulacijo nizkega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH						Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)
	Npd1	Npd2	Npd3	Npd4	Npd5/a	Npd5/b		Npd5/b
0	5,20	5,22	5,21	5,23	5,25	5,26	24	5,97
1	5,22	5,34	5,23	5,23	5,25	5,26	26	6,00
2	5,24	5,48	5,29	5,26	5,26	5,27	28	6,04
3	5,26	5,74	5,44	5,34	5,30	5,31	30	6,08
4	5,33	5,92	5,65	5,37	5,35	5,36	31	6,12
5	5,36	6,08	5,76	5,45	5,39	5,38	32	6,14
6	5,43	6,19	5,86	/	5,42	5,42	33	6,15
7	5,48	6,29	5,96	5,56	5,46	5,49	34	6,17
8	5,53	/	6,03	5,61	5,51	5,52	35	6,18
9	5,58	6,42	6,10	5,68	5,55	/	36	6,20
10	5,63	/	6,17	5,71	5,58	5,60	37	6,23
11	5,67	/	6,23	5,75	/	/	38	6,24
12	5,71	6,54	6,29	/	5,63	5,64	39	6,25
13	/	6,56	6,32	5,83	5,67	/	40	6,28
14	5,77	6,58	6,36	5,87	5,71	5,72	45	6,35
15	5,80	/	/	/	5,73	/	50	6,41
16	/	/	/	/	5,76	5,77	55	6,46
17	5,84	/	/	/	5,79	5,79	60	6,51
18	5,87	/	/	/	5,82	5,82	65	6,55
19	/	/	/	/	/	5,87	70	6,57
20	/	/	/	/	/	5,89	75	6,58
22	/	/	/	/	/	5,92	80	6,60

4.1.2.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

V preglednici XXXVIII so predstavljeni poskusi simulacije padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona.

Preglednica XXXVIII: Prikazani so rezultati simulacije padca pH iz TČ v proksimalni del kolona, med simulacijo nizkega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH				Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)			
	Np1	Np2	Np3/a	Np3/b		Np1	Np2	Np3/a	Np3/b
0	6,58	6,57	6,61	6,64	19	5,14	5,18	5,16	5,15
1	6,58	6,57	6,61	6,64	20	5,12	5,17	5,11	5,11
2	6,58	/	6,59	6,61	21	5,11	5,17	5,09	5,09
3	6,49	6,50	6,48	6,47	22	5,11	5,17	5,08	5,07
4	6,32	6,32	6,30	6,26	23	5,11	5,17	5,07	5,05
5	6,17	6,12	6,15	6,13	24	5,11	5,18	5,05	5,03
6	6,01	/	5,99	6,00	25	5,11	5,18	5,03	5,01
7	5,90	5,88	5,86	5,89	26	5,11	5,18	5,00	4,99
8	5,81	5,76	5,79	5,79	27	5,11	5,19	4,99	4,98
9	5,71	5,66	5,60	5,67	28	5,12	5,19	4,97	4,95
10	5,62	/	5,62	5,58	29	5,12	5,19	4,95	4,93
11	5,52	5,51	5,50	5,51	30	5,13	5,19	4,93	4,91
12	5,46	5,44	5,44	5,45	32	/	5,20	/	4,90
13	5,40	/	5,41	5,39	34	/	5,20	/	4,89
14	5,35	5,34	5,35	5,34	36	/	5,20	/	4,88
15	5,30	5,29	5,32	5,30	38	/	5,21	/	4,87
16	5,26	5,25	5,27	5,26	40	/	5,21	/	4,87
17	5,21	5,22	5,24	5,22	45	/	5,21	/	4,86
18	5,18	5,18	5,20	5,19	50	/	/	/	4,85

4.1.2.4 Simulacija celotnega nizkega profila

V preglednici XXXIX so predstavljeni poskusi simulacije celotnega nizkega profila pH.

Preglednica XXXIX: Prikazani so rezultati simulacije celotnega nizkega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Navedene so tudi povprečne (povp.) vrednosti pH Nc3 paralel in RSD vrednosti. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH						Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)							
	Nc1	Nc2	Nc3/ a	Nc3/ b	Nc3/ c	Povp Nc3		Nc1	Nc2	Nc3/ a	Nc3/ b	Nc3/ c	Povp Nc3	RSD [%]	
0	1,77	1,80	1,80	1,80	1,81	1,80	0,32	90	/	6,08	6,11	6,11	6,09	6,10	0,19
1	1,77	1,80	1,80	1,80	1,81	1,80	0,32	92	/	6,12	6,12	6,13	6,10	6,12	0,25
1,5	1,77	1,80	1,80	1,80	1,81	1,80	0,32	93	6,27	6,14	6,13	6,13	6,11	6,12	0,19
2	1,77	1,80	1,80	1,80	1,82	1,81	0,64	94	6,28	6,15	6,15	6,16	6,12	6,14	0,34
2,5	1,77	1,87	1,85	1,87	1,88	1,87	0,82	95	6,29	6,17	6,16	6,18	6,13	6,16	0,41
3	2,12	2,10	2,12	2,10	2,12	2,11	0,55	96	6,31	6,18	6,18	6,20	6,15	6,18	0,41
3,5	2,68	2,70	2,71	2,69	2,69	2,70	0,43	97	6,32	6,20	6,20	6,20	6,17	6,19	0,28
4	3,53	3,54	3,57	3,54	3,55	3,55	0,43	98	6,35	6,23	6,22	6,24	6,19	6,22	0,40
4,5	4,17	4,21	4,20	4,17	4,19	4,19	0,36	99	6,36	6,24	6,24	6,24	6,21	6,23	0,28
5	4,75	4,75	4,77	4,75	4,77	4,76	0,24	100	6,37	6,25	6,25	6,27	6,23	6,25	0,32
5,5	4,93	4,93	4,97	4,93	4,94	4,95	0,42	102	6,39	6,29	6,28	6,29	6,28	6,28	0,09
6	5,03	5,04	5,05	5,07	5,05	5,06	0,23	104	6,41	6,32	6,32	6,31	6,32	6,32	0,09
6,5	5,11	5,11	5,13	5,11	5,12	5,12	0,20	106	6,44	6,35	6,32	6,36	6,34	6,34	0,32
7	5,17	5,17	5,19	5,17	5,17	5,18	0,22	108	6,45	6,38	6,35	6,39	6,36	6,37	0,33
8	5,17	5,18	5,19	5,17	5,17	5,18	0,22	110	/	6,40	6,37	6,44	6,38	6,40	0,59
9	5,18	5,18	5,20	5,18	5,18	5,19	0,22	115	6,50	6,45	6,41	6,45	6,43	6,43	0,31
10	5,18	5,19	5,20	5,19	5,19	5,19	0,11	120	6,54	6,50	6,46	6,51	6,48	6,48	0,39
12	5,19	5,19	5,21	5,20	5,20	5,20	0,11	125	6,55	6,54	6,48	6,54	6,50	6,51	0,47
14	5,19	5,20	5,22	5,22	5,22	5,22	0,00	130	6,57	6,56	6,50	6,55	6,53	6,53	0,39
16	5,19	5,21	5,22	5,22	5,23	5,22	0,11	140	6,59	6,60	6,53	6,60	6,56	6,56	0,54
18	5,20	5,21	5,22	5,23	5,23	5,23	0,11	150	6,61	6,62	6,58	6,61	6,57	6,59	0,32
20	5,22	5,21	5,23	5,24	5,23	5,24	0,11	170	6,63	6,64	6,60	6,63	6,61	6,61	0,23
25	5,23	5,22	5,24	5,25	5,24	5,25	0,11	190	6,63	6,64	6,63	6,63	6,62	6,63	0,09
30	5,25	5,22	5,24	5,26	5,25	5,25	0,19	200	6,64	6,64	6,63	6,64	6,62	6,63	0,15
35	5,26	5,23	5,24	5,27	5,25	5,26	0,29	202	6,64	6,64	/	/	/	/	/
40	5,27	5,24	5,25	5,27	5,26	5,27	0,19	203	6,61	/	/	/	/	/	/
45	5,28	5,25	5,25	5,28	5,27	5,27	0,29	204	6,47	/	/	/	/	/	/
50	5,28	5,26	5,26	5,28	5,27	/	0,19	205	6,26	/	/	/	/	/	/
52	5,29	/	/	/	/	/	/	206	6,13	6,14	/	/	/	/	/
53	5,29	/	/	/	/	/	/	207	6,00	6,07	6,63	6,65	6,62	6,63	0,23
54	5,32	/	/	/	/	/	/	208	5,89	5,96	6,63	6,65	6,62	6,63	0,23
55	5,34	5,26	5,26	5,28	5,27	5,27	0,19	209	5,79	/	6,59	6,61	6,56	6,59	0,38
56	5,36	/	/	/	/	/	/	210	5,67	/	6,48	6,50	6,46	6,48	0,31
58	5,43	/	/	/	/	/	/	211	5,58	/	6,30	6,32	6,29	6,30	0,24
59	5,49	/	/	/	/	/	/	212	5,51	5,59	6,15	6,17	6,14	6,15	0,25
60	5,51	5,26	5,27	5,29	5,27	5,28	0,22	213	5,45	5,52	6,00	5,99	5,97	5,99	0,26
61	5,55	5,26	5,27	5,29	5,27	5,28	0,19	214	5,39	/	5,86	5,87	5,85	5,86	0,17
62	5,58	5,26	5,28	5,30	5,28	5,29	0,22	215	5,34	5,40	5,78	5,80	5,78	5,79	0,20
63	/	5,26	5,30	5,33	5,28	5,30	0,47	216	5,30	5,35	5,65	5,67	5,65	5,66	0,20
64	/	5,27	5,33	5,36	5,30	5,33	0,57	217	5,26	5,32	5,62	5,62	5,59	5,61	0,31
65	/	5,31	5,37	5,38	5,34	5,36	0,39	218	5,22	5,28	5,56	5,56	5,52	5,55	0,42
66	/	5,36	5,43	5,43	5,39	5,42	0,43	219	5,19	/	5,47	5,47	5,42	5,45	0,53
67	5,75	5,38	5,45	5,45	5,43	5,44	0,21	220	/	5,25	5,41	5,41	5,39	5,40	0,21
68	/	5,42	5,49	5,49	5,47	5,48	0,21	221	5,11	/	5,35	5,34	5,32	5,34	0,29
69	5,80	5,49	5,53	5,52	5,51	5,52	0,18	222	5,05	5,18	5,32	5,31	5,30	5,31	0,19
70	/	5,52	5,55	5,55	5,55	5,55	0,00	223	/	/	5,27	5,28	5,27	5,27	0,11
71	/	5,57	5,59	5,59	5,61	5,60	0,21	224	5,05	5,13	5,21	5,24	5,24	5,24	0,00
72	5,89	5,60	5,60	5,60	5,63	5,61	0,31	225	/	5,11	5,17	5,20	5,20	5,20	0,11
73	/	5,64	5,64	5,64	5,65	5,64	0,10	226	5,01	5,07	5,14	5,18	5,17	5,17	0,11
74	5,94	5,69	5,68	5,68	5,69	5,68	0,10	227	/	5,04	5,10	5,14	5,14	5,14	0,00
75	/	5,72	5,74	5,74	5,73	5,74	0,10	228	4,98	5,02	5,08	5,11	5,11	5,11	0,11
76	5,94	5,75	5,78	5,78	5,75	5,77	0,30	229	/	4,98	5,07	5,09	5,09	5,09	0,11
77	/	5,77	5,80	5,80	5,78	5,79	0,20	230	4,93	4,97	5,05	5,06	5,05	5,06	0,20
78	6,02	/	5,83	5,83	5,80	5,82	0,30	232	/	4,93	5,03	5,05	5,03	5,04	0,23
79	/	/	5,85	5,85	5,83	5,84	0,20	234	/	4,91	5,00	5,03	5,02	5,03	0,11
80	6,05	5,87	5,88	5,88	5,86	5,87	0,20	236	4,89	4,89	4,96	4,99	5,00	5,00	0,12
81	/	/	/	/	/	/	/	238	4,88	4,87	4,94	4,96	4,98	4,97	0,23
82	6,08	5,92	5,93	5,96	5,93	5,94	0,29	240	/	4,85	4,89	4,94	4,94	4,94	0,00
83	/	/	/	/	/	/	/	250	4,83	4,84	4,86	4,87	4,88	4,87	0,12
84	6,11	5,97	5,98	5,98	5,96	5,97	0,19	260	4,81	4,84	4,82	4,83	4,83	4,83	0,00
85	6,13	/	/	/	/	/	/	270	4,80	4,84	4,81	4,82	4,81	4,81	0,12
86	/	6,00	6,02	6,04	6,00	6,02	0,33	280	/	/	4,80	4,80	4,80	4,80	0,00
88	6,18	6,04	6,06	6,08	6,05	6,06	0,25	290	/	/	4,80	4,80	4,80	4,80	0,00

4.1.3 Srednji profil

4.1.3.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ pri srednjem profilu

V preglednici XL so predstavljeni poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ.

Preglednica XL: Prikazani so rezultati dviga pH pri prehodu iz območja želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ, med simulacijo srednjega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa.

Čas [min]	pH		Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)	
	Sd1/a	Sd1/b		Sd1/a	Sd1/b
0	1,61	1,60	7	5,86	5,88
1	1,61	1,60	7,5	5,90	5,91
1,5	1,61	1,60	8	5,93	5,92
2	1,61	1,60	8,5	5,93	5,92
2,5	1,61	1,62	9	5,93	5,92
3	1,68	1,69	9,5	5,94	5,93
3,5	1,81	1,84	10	5,94	5,93
4	2,45	2,49	11	5,95	5,94
4,5	4,49	4,51	12	5,96	5,94
5	5,58	5,61	13	5,96	5,95
5,5	5,73	5,74	14	5,97	5,95
6	5,79	5,81	15	5,98	5,96
6,5	5,84	5,86			

4.1.3.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

Simulacija dviga pH je bila razdeljena na dva dela, dvig pH do prvega platoja in dvig pH do drugega platoja pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ. V preglednici XLI so predstavljeni poskusi simulacije dviga pH do prvega platoja in v preglednici XLII dviga pH do drugega platoja pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ.

Dvig pH do prvega platoja (do vrednosti pH med 6,9 in 7,0):

Preglednica XLI: Prikazani so rezultati simulacije dviga pH do prvega platoja, pri prehodu iz proksimalnega dela TČ v distalni del TČ, med simulacijo srednjega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH							
	Sppd1	Sppd2	Sppd3	Sppd4	Sppd5	Sppd6	Sppd7/a	Sppd7/b
0	5,99	6,03	6,03	6,02	5,95	6,01	6,03	6,00
1	6,00	6,04	6,03	6,02	5,94	6,01	6,03	6,00
2	6,01	6,03	6,03	6,02	5,94	6,04	6,03	6,00
3	6,06	/	6,10	6,03	5,96	6,07	6,10	6,10
4	6,14	6,08	6,25	6,04	5,98	6,19	6,13	6,11
5	/	6,17	6,35	6,06	6,01	6,24	6,16	6,15
6	6,30	6,25	6,47	6,10	6,04	6,33	6,19	6,17
7	6,35	6,30	/	6,14	6,06	6,41	6,23	6,20
8	6,41	6,35	/	6,18	6,09	6,49	6,26	6,23
9	6,46	6,40	/	6,22	6,11	/	6,28	6,26
10	6,51	6,45	/	6,25	6,13	6,57	6,30	6,28
11	6,56	6,49	/	6,29	6,15	6,59	6,33	6,30
12	6,62	6,52	/	6,31	6,16	6,61	6,36	6,34
13	6,65	6,55	/	6,35	6,18	6,66	6,38	6,35
14	/	6,60	/	6,38	6,20	6,72	6,40	6,38
15	6,72	6,61	/	6,40	6,22	6,78	6,42	6,39
16	/	6,64	/	6,42	6,23	6,83	6,43	6,41
17	6,78	6,65	/	6,45	6,24	6,86	6,44	6,43
18	6,82	6,68	/	6,47	6,26	6,87	/	6,46
19	6,83	6,70	/	6,49	6,27	6,89	/	6,49

Čas [min]	Nadaljevanje preglednice XLII							
	pH							
Sppd1	Sppd2	Sppd3	Sppd4	Sppd5	Sppd6	Sppd7/a	Sppd7/b	
20	6,85	6,72	/	6,50	6,28	6,92	6,51	6,52
22	6,90	6,77	/	6,53	6,31	6,92	6,56	6,55
24	6,94	6,81	/	6,73	6,41	6,93	6,61	6,59
26	6,96	6,84	/	6,85	6,54	6,94	6,65	6,62
28	6,98	6,87	/	6,93	6,65	6,95	6,69	6,66
30	6,98	6,90	/	6,99	6,77	6,96	6,72	6,69
32	6,98	6,91	/	7,05	6,82	/	6,74	6,71
34	/	6,93	/	7,05	/	/	6,78	6,74
36	/	/	/	/	/	/	6,81	6,77
38	/	/	/	/	/	/	6,82	6,80
40	/	/	/	/	/	/	6,84	6,82
42	/	/	/	/	/	/	6,86	6,83
44	/	/	/	/	/	/	6,88	6,85
46	/	/	/	/	/	/	6,90	6,87

Dvig pH do prvega platoja (do vrednosti pH med 7,5 in 7,6):

Preglednica XLII: Prikazani so rezultati simulacije dviga pH do drugega platoja, pri prehodu iz proksimalnega dela TČ v distalni del TČ, med simulacijo srednjega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH					Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)		
	Sdpd1	Sdpd2	Sdpd3	Sdpd4/a	Sdpd4/b		Sdpd3	Sdpd4/a	Sdpd4/b
0	7,08	7,07	6,96	6,96	6,98	13	7,41	7,34	7,35
1	7,08	7,07	6,96	6,96	6,98	14	/	7,35	7,37
2	7,08	7,07	6,97	6,97	6,98	15	7,44	7,37	7,39
3	7,08	7,07	/	7,00	6,99	16	7,45	7,39	7,41
4	7,08	7,08	7,10	7,04	7,03	17	7,47	7,40	7,41
5	7,09	7,08	7,15	7,10	7,08	18	7,48	7,41	7,42
6	7,09	7,09	7,18	7,14	7,12	19	7,50	7,43	7,43
7	7,10	7,09	7,21	7,17	7,16	20	7,52	7,44	7,44
8	7,10	7,10	7,25	7,21	7,20	22	7,54	7,45	7,45
9	/	7,10	7,29	/	7,24	24	7,56	7,46	7,47
10	/	7,11	7,32	7,26	7,27	26	7,57	7,48	7,48
11	/	7,12	7,36	7,30	7,30	28	7,58	7,51	7,49
12	/	7,13	7,39	7,32	7,33	30	7,59	7,53	7,51

4.1.3.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

V preglednici XLIII so predstavljeni poskusi simulacije padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona.

Preglednica XLIII: Prikazani so rezultati simulacije padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona, med simulacijo srednjega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Znak / prikazuje, da pH pri določeni časovni točki ni bil izmerjen.

Čas [min]	pH				Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)	
	Sp1	Sp2	Sp3/a	Sp3/b		Sp3/a	Sp3/b
0	7,58	7,62	7,53	7,57	17	6,50	6,49
1	7,58	7,62	7,53	7,57	18	6,45	6,42
2	7,52	7,62	7,53	7,57	19	6,41	/
3	7,28	7,58	7,43	7,55	20	6,36	6,33
4	7,04	7,53	7,38	7,45	22	6,28	6,30
5	6,79	7,46	/	7,35	24	6,21	/
6	6,59	7,42	7,21	7,17	26	6,22	6,23
7	6,44	7,37	7,13	7,13	28	6,26	6,24
8	6,27	7,32	7,05	/	30	6,26	6,24
9	6,17	7,27	6,99	7,00	32	6,27	6,27
10	6,00	/	6,91	6,96	34	6,28	6,29
11	/	/	/	6,89	36	6,30	6,31
12	/	/	6,78	6,80	38	6,31	6,32
13	/	/	/	/	40	6,32	6,34
14	/	/	6,68	6,68	45	6,35	6,35
15	/	/	6,61	/	50	6,37	6,38

4.1.3.4 Simulacija celotnega srednjega profila

V preglednici XLIV so predstavljeni poskusi simulacije celotnega srednjega profila pH.

Preglednica XLIV: Prikazani so rezultati simulacije celotnega srednjega profila. Rezultat simulacije je vrednost pH v odvisnosti od časa. Navedene so tudi povprečne (povp.) vrednosti Sc2 paralel in RSD vrednosti. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani. Znak / prikazuje, da pri določeni časovni točki ni bil izmerjen pH.

Čas [min]	pH						Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)					
	Sc1	Sc2/a	Sc2/b	Sc2/c	Povp. Sc2	RSD [%]		Sc1	Sc2/a	Sc2/b	Sc2/c	Povp. Sc2	RSD [%]
0	1,58	1,60	1,59	1,60	1,60	0,36	92	6,68	6,73	6,67	6,67	6,69	0,52
1	1,58	1,60	1,59	1,60	1,60	0,36	94	6,71	6,75	6,71	6,71	6,72	0,34
2	1,58	1,60	1,59	1,60	1,60	0,36	96	/	6,78	6,73	6,71	6,74	0,53
2,5	1,58	1,60	1,61	1,60	1,60	0,36	98	6,78	6,82	6,77	6,76	6,78	0,47
3	1,65	1,68	1,67	1,68	1,68	0,34	100	/	6,84	6,79	6,80	6,81	0,39
3,5	1,79	1,81	1,80	1,81	1,81	0,32	105	6,87	6,84	6,84	6,85	6,84	0,08
4	2,42	2,46	2,46	2,48	2,47	0,47	108	6,99	6,88	6,87	6,89	6,88	0,10
4,5	4,56	4,42	4,44	4,46	4,44	0,45	109	7,06	6,89	6,88	6,89	6,89	0,10
5	5,54	5,56	5,58	5,57	5,57	0,18	110	7,13	6,90	6,90	6,90	6,90	0,00
5,5	5,70	5,70	5,75	5,76	5,74	0,56	111	7,19	6,91	6,91	6,91	6,91	0,00
6	5,81	5,77	5,79	5,78	5,78	0,17	112	7,22	6,92	6,93	6,92	6,92	0,00
6,5	5,81	5,83	5,84	5,83	5,83	0,10	113	7,26	6,92	6,93	6,92	6,92	0,00
7	5,82	5,86	5,88	5,89	5,88	0,26	115	/	6,92	6,94	6,92	6,93	0,17
7,5	5,86	5,90	5,90	5,91	5,90	0,10	116	7,35	6,93	6,94	6,92	6,93	0,14
8	5,88	5,90	5,93	5,92	5,92	0,26	117	7,40	6,97	6,98	6,96	6,97	0,14
8,5	5,90	5,93	5,93	5,92	5,93	0,10	118	/	7,02	7,03	7,02	7,02	0,08
9	5,91	5,94	5,94	5,94	5,94	0,00	119	7,45	7,06	7,06	7,05	7,06	0,08
9,5	5,93	5,95	5,96	5,94	5,95	0,17	120	/	7,10	7,11	7,10	7,10	0,08
10	5,96	5,95	5,96	5,95	5,95	0,10	121	/	7,14	7,14	7,13	7,14	0,08
12	5,99	5,98	5,98	5,98	5,98	0,00	122	7,49	7,18	7,18	7,17	7,18	0,08
14	6,00	6,02	6,01	6,02	6,02	0,10	123	7,50	7,21	7,22	7,21	7,21	0,08
16	6,01	6,02	6,03	6,03	6,03	0,10	124	7,51	7,24	7,24	7,23	7,24	0,08
18	6,02	6,03	6,04	6,05	6,04	0,17	125	7,52	7,27	7,27	7,25	7,26	0,16
20	6,04	6,05	6,04	6,05	6,05	0,10	126	7,53	7,31	7,31	7,30	7,31	0,08
22	6,04	6,05	6,04	6,05	6,05	0,10	127	7,54	7,33	7,33	7,32	7,33	0,08
24	6,04	6,05	6,04	6,05	6,05	0,10	128	7,55	7,35	7,35	7,34	7,35	0,08
26	6,04	6,06	6,04	6,06	6,05	0,19	129	/	7,36	7,36	7,35	7,36	0,08
28	6,04	6,06	6,05	6,06	6,06	0,10	130	/	7,38	7,39	7,38	7,38	0,08
30	6,04	6,06	6,05	6,07	6,06	0,17	131	7,56	7,40	7,41	7,40	7,40	0,08
35	6,05	6,07	6,06	6,07	6,07	0,10	132	7,57	7,41	7,41	7,41	7,41	0,00
40	6,05	6,08	6,06	6,08	6,07	0,19	133	7,57	7,42	7,42	7,42	7,42	0,00
50	6,06	6,08	6,07	6,08	6,08	0,10	134	7,57	7,43	7,42	7,42	7,42	0,08
60	6,06	6,08	6,08	6,09	6,08	0,09	135	7,57	7,44	7,44	7,43	7,44	0,08
67	6,06	6,08	6,09	6,10	6,09	0,16	136	7,57	7,45	7,45	7,44	7,45	0,08
68	6,06	6,08	6,09	6,10	6,09	0,16	137	7,57	7,47	7,46	7,46	7,46	0,08
69	6,08	6,09	6,09	6,10	6,09	0,09	138	7,58	7,48	7,46	7,46	7,47	0,15
70	6,10	6,13	6,11	6,12	6,12	0,16	139	7,58	7,50	7,47	7,47	7,48	0,23
71	6,13	6,16	6,15	6,13	6,15	0,25	140	7,58	7,51	7,49	7,50	7,50	0,14
72	6,16	6,20	6,19	6,15	6,18	0,43	142	7,58	7,51	7,50	7,51	7,51	0,08
73	6,20	6,23	6,21	6,21	6,22	0,19	144	7,58	7,52	7,51	7,53	7,52	0,13
74	6,23	6,26	6,23	6,24	6,24	0,24	146	7,58	7,52	7,51	7,53	7,53	0,13
75	6,26	6,29	6,26	6,28	6,28	0,24	148	7,58	7,53	7,52	7,54	7,53	0,13
76	6,29	6,32	6,29	6,32	6,31	0,27	150	7,58	7,54	7,51	7,54	7,53	0,23
77	6,32	6,34	6,32	6,33	6,33	0,16	160	7,59	7,56	7,52	7,55	7,54	0,28
78	6,34	6,36	6,34	6,34	6,35	0,18	165	/	7,57	7,52	7,55	7,55	0,33
79	6,36	6,38	6,36	6,39	6,38	0,24	170	/	7,57	7,53	7,56	7,55	0,28
80	6,38	6,41	6,38	6,40	6,41	0,16	175	/	7,57	7,53	7,56	7,55	0,28
81	6,41	6,45	6,43	6,41	6,43	0,31	180	/	7,57	7,54	7,57	7,56	0,23
82	6,42	6,48	6,44	6,44	6,45	0,36	185	/	7,57	7,56	7,57	7,57	0,08
83	6,44	6,53	6,45	6,46	6,48	0,67	186	/	7,57	7,56	7,57	7,57	0,08
84	/	6,55	6,47	6,48	6,50	0,64	187	/	7,57	7,57	7,57	7,57	0,00
85	6,51	6,59	6,51	6,51	6,53	0,53	188	/	7,35	7,37	7,35	7,36	0,16
86	6,53	6,61	6,54	6,54	6,56	0,62	189	/	7,17	7,11	7,17	7,19	0,24
87	6,55	6,63	6,56	6,56	6,58	0,61	190	/	7,13	/	7,13	7,12	0,30
88	6,59	6,65	6,59	6,58	6,61	0,57	191	/	7,00	6,98	7,00	7,00	0,22
89	6,61	6,68	6,61	6,59	6,63	0,71	192	/	6,96	6,95	6,98	6,96	0,22
90	6,63	6,70	6,63	6,62	6,65	0,66	193	/	6,89	6,89	6,89	6,89	0,00

Nadaljevanje preglednice XLIV													
Čas [min]	pH						Čas [min]	pH (nadaljevanje preglednice)					
	Sc1	Sc2/a	Sc2/b	Sc2/c	Povp. Sc2	RSD [%]		Sc1	Sc2/a	Sc2/b	Sc2/c	Povp. Sc2	RSD [%]
194	/	6,80	6,81	6,81	6,81	0,08	214	/	6,34	6,35	6,34	6,34	0,09
195	/	/	6,76	6,74	6,75	0,21	215	/	6,35	6,35	6,34	6,35	0,09
196	/	6,68	6,69	6,66	6,68	0,23	216	/	6,35	6,36	6,35	6,35	0,09
197	/	6,61	6,63	6,60	6,61	0,23	217	/	6,36	6,37	6,36	6,36	0,09
198	/	6,56	6,56	6,56	6,56	0,00	218	/	6,37	6,37	6,37	6,37	0,00
199	/	6,53	6,50	/	6,52	0,33	219	/	6,38	6,38	6,38	6,38	0,00
200	/	6,49	6,49	6,49	6,50	0,09	220	/	6,40	6,40	6,40	6,40	0,00
201	/	6,42	6,41	6,42	6,44	0,09	222	/	6,40	6,40	6,40	6,40	0,00
202	/	6,38	6,37	6,38	6,38	0,09	224	/	6,41	6,41	6,41	6,41	0,00
203	/	6,33	6,33	6,33	6,33	0,00	226	/	6,42	6,42	6,43	6,42	0,09
204	/	6,30	6,29	6,30	6,30	0,09	228	/	6,44	6,45	6,45	6,45	0,09
205	/	6,27	6,27	6,27	6,27	0,00	230	/	6,45	6,46	6,46	6,46	0,09
207	/	6,24	6,24	6,24	6,24	0,00	235	/	6,46	6,49	6,46	6,47	0,27
208	/	6,25	6,26	6,25	6,25	0,09	240	/	6,47	6,49	6,48	6,48	0,15
209	/	6,27	6,28	6,27	6,27	0,09	245	/	6,47	6,49	6,50	6,49	0,24
210	/	6,28	6,29	6,28	6,28	0,09	250	/	6,49	6,50	6,50	6,50	0,09
211	/	6,29	6,29	6,28	6,29	0,09	260	/	6,49	6,50	6,50	6,50	0,09
212	/	6,31	6,30	6,30	6,30	0,09	270	/	6,50	6,50	6,50	6,50	0,00
213	/	6,32	6,33	6,32	6,32	0,09	280	/	6,50	6,50	6,50	6,50	0,00

4.2 Pufrska kapaciteta

Rezultati meritev pufrskih kapacetet so predstavljeni v preglednicah XLV – LIII za vse tri simulirane profile pH. Navedene so vrednosti pufrske kapacitete, območje spremembe pH in volumen dodane 0,1 M HCl pri določenem časovnem intervalu.

4.2.1 Visok profil

V preglednicah XLV – XLVII so predstavljene vse meritve pufrske kapacitete v sklopu visokega profila.

Preglednica XLV: Predstavljeni so rezultati pufrske kapacitete merjeni pri krajsih časovnih intervalih, med simulacijo visokega profila. Poleg vrednosti pufrske kapacitete, je podano območje spremembe pH in skupen volumen dodane 0,1 M HCl v vsakem časovnem intervalu. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

Paralelka	PKV/a		PKV/b		
	Čas [min]	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]		Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	
		Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]
0 – 5 min		49,88		50,36	
5 – 10 min	2,00 – 1,81	1150	1,97 – 1,77	1150	2,22
10 – 15 min		5,96 – 5,76	50	5,76 – 5,50	60
15 – 20 min		3,12	6,02 – 5,82	3,35	3,92
20 – 40 min		4,30	6,28 – 6,08	4,21	6,39 – 6,22
40 – 60 min		4,41	6,46 – 6,25	4,34	6,39 – 6,15
60 – 80 min		4,50	6,51 – 6,31	4,65	6,50 – 6,27
80 – 85 min		4,31	6,64 – 6,44	5,95	6,70 – 6,49
85 – 90 min		5,02	6,79 – 6,59	6,95	6,81 – 6,61
90 – 100 min		5,27	6,89 – 6,68	7,20	6,90 – 6,69

Nadaljevanje preglednice XLV				
Paralelka	PKV/a		PKV/b	
Čas [min]	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]		Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	
	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]
100 – 105 min	6.03		7.81	
	7.15 – 6.95	120	7.19 – 6.99	160
105 – 110 min	4.98		6.89	
	7.29 – 7.09	100	7.30 – 7.10	140
110 – 120 min	3.19		5.88	
	7.53 – 7.33	130	7.55 – 7.35	240
120 – 140 min	3.01		5.02	
	7.82 – 7.59	270	7.79 – 7.59	420
140 – 160 min	2.79		4.65	
	7.95 – 7.75	220	7.92 – 7.72	380
160 – 180 min	2.53		4.80	
	7.97 – 7.77	200	7.96 – 7.76	390
180 – 200 min	2.44		4.62	
	7.99 – 7.80	180	8.01 – 7.82	360
200 – 220 min	2.32		4.49	
	8.03 – 7.83	180	8.05 – 7.85	360
220 – 240 min	2.19		4.44	
	8.04 – 7.84	180	8.06 – 7.86	360
240 – 245 min	6.78		10.11	
	7.91 – 7.71	120	7.89 – 7.69	200
245 – 250 min	7.74		12.01	
	7.51 – 7.31	160	7.54 – 7.34	250
250 – 260 min	14.23		15.10	
	7.11 – 6.91	580	7.12 – 6.92	600
260 – 280 min	15.50		15.34	
	6.79 – 6.59	1300	6.83 – 6.63	1300
280 – 300 min	15.74		15.88	
	6.57 – 6.37	1350	6.55 – 6.35	1300

Preglednica XLVI: Predstavljeni so rezultati merjenja pufrske kapacitete pri daljših časovnih intervalih, med simulacijo visokega profila. Poleg vrednosti pufrske kapacitete, je podano območje spremembe pH in skupen volumen dodane 0,1 M HCl v vsakem časovnem intervalu.

Paralelka	PKV/c		PKV/d	
	Čas [min]	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	
		Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]	Območje pH
0 – 10 min		14.03		14.58
		5.49 – 5.29	600	5.51 – 5.31
10 – 20 min		3.86		3.68
		6.09 – 5.89	160	6.12 – 5.92
20 – 40 min		4.21		4.16
		6.34 – 6.14	335	6.33 – 6.14
40 – 60 min		4.45		4.41
		6.44 – 6.25	350	6.42 – 6.22
60 – 80 min		4.68		4.71
		6.49 – 6.29	380	6.48 – 6.28
80 – 100 min		6.81		7.11
		6.71 – 6.51	550	6.69 – 6.48
100 – 120 min		6.22		6.57
		7.34 – 7.14	500	7.32 – 7.12
120 – 140 min		5.29		5.41
		7.80 – 7.59	440	7.78 – 7.56
140 – 160 min		4.99		5.08
		7.95 – 7.75	400	7.94 – 7.74
160 – 180 min		4.71		4.86
		7.98 – 7.78	380	8.00 – 7.80
180 – 200 min		4.51		4.44
		8.02 – 7.82	350	8.02 – 7.81
200 – 220 min		4.46		4.30
		8.04 – 7.84	340	8.04 – 7.84
220 – 240 min		4.30		4.29
		8.05 – 7.85	340	8.04 – 7.83
240 – 260 min		10.79		10.97
		7.29 – 7.09	850	7.25 – 7.05
260 – 280 min		14.78		15.02
		6.74 – 6.53	1300	6.72 – 6.52
280 – 300 min		15.91		15.88
		6.56 – 6.36	1300	6.57 – 6.37

Preglednica XLVII: Pufrske kapacitete uporabljenih medijev za simulacijo visokega profila. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlP-med medijem A (McIlP 6,4 (15×)) in medijem B (McIlP 8,1 (15×)).

Medij	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]
McIlvainov pufer 6,4 (15×)-A	4,38
A:B=3:1	7,74
McIlvainov pufer 8,1 (7×)-B	4,31
McIlvainov pufer 6,5 (4×)	16,48

4.2.2 Nizek profil

V preglednicah XLVIII – L so predstavljene vse meritve pufrske kapacitete v sklopu simulacije nizkega profila.

Preglednica XLVIII: Predstavljeni so rezultati pufrske kapacitete merjeni pri krajših časovnih intervalih, med simulacijo nizkega profila. Poleg vrednosti pufrske kapacitete, je podano območje spremembe pH in skupen volumen dodane 0,1 M HCl v vsakem časovnem intervalu.

Čas [min]	PKN/a		Čas [min]	PKN/a (nadaljevanje preglednice)		
	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]			Območje pH	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	
	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]				
0 – 5 min	81,26		120 – 140 min	5,82		
	1,88 – 1,68	2000		6,52 – 6,32	460	
5 – 10 min	2,51		140 – 160 min	5,97		
	4,55 – 4,35	50		6,59 – 6,36	480	
10 – 15 min	3,02		160 – 180 min	5,42		
	5,05 – 4,85	60		6,60 – 6,40	440	
15 – 20 min	3,35		180 – 200 min	5,45		
	5,22 – 5,02	65		6,61 – 6,41	420	
20 – 40 min	4,24		200 – 210 min	6,60		
	5,2 – 5,07	350		5,56 – 5,36	260	
40 – 60 min	4,52		210 – 220 min	9,33		
	5,32 – 5,12	350		5,49 – 5,29	380	
60 – 65 min	4,96		220 – 240 min	12,88		
	5,35 – 5,15	100		5,29 – 5,09	1000	
65 – 70 min	5,50		240 – 260 min	14,77		
	5,39 – 5,19	110		4,88 – 4,68	1200	
70 – 90 min	5,15		260 – 280 min	14,90		
	5,91 – 5,71	400		4,83 – 4,63	1200	
90 – 100 min	5,21		280 – 300 min	15,23		
	6,19 – 5,99	210		4,81 – 4,61	1200	
100 – 120 min	5,78					
	6,42 – 6,22	460				

Preglednica XLIX: Predstavljeni so rezultati merjenja pufrske kapacitete pri daljših časovnih intervalih, med simulacijo nizkega profila. Poleg vrednosti pufrske kapacitete, je podano območje spremembe pH in skupen volumen dodane 0,1 M HCl v vsakem časovnem intervalu. Preglednica se nadaljuje na naslednji strani.

Čas [min]	PKN/b		PKN/c	
	Pufrska kapaciteta		Pufrska kapaciteta	
	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]
0 – 10 min	19,19		19,05	
	4,33 – 4,12	850	4,33 – 4,12	900
10 – 20 min	3,15		3,34	
	5,19 – 4,99	120	5,19 – 4,99	125
20 – 40 min	4,42		4,76	
	5,27 – 5,07	340	5,27 – 5,07	335
40 – 60 min	4,87		4,86	
	5,30 – 5,11	380	5,30 – 5,11	390
60 – 80 min	5,05		5,12	
	5,51 – 5,31	400	5,51 – 5,31	410
80 – 100 min	5,16		5,30	
	6,01 – 5,81	420	6,01 – 5,81	410
100 – 120 min	5,50		5,64	
	6,38 – 6,18	440	6,38 – 6,18	450

Nadaljevanje preglednice XLIX				
Paralelka Čas [min]	PKN/b		PKN/c	
	Pufrska kapaciteta Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μ l]	Pufrska kapaciteta Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μ l]
120 – 140 min	5,36		5,70	
	6,47 – 6,26	450	6,47 – 6,26	450
140 – 160 min	5,72		5,72	
	6,59 – 6,39	460	6,59 – 6,39	460
160 – 180 min	5,87		5,79	
	6,62 – 6,42	460	6,62 – 6,42	460
180 – 200 min	6,19		6,38	
	6,64 – 6,44	500	6,64 – 6,44	520
200 – 220 min	9,99		10,26	
	5,88 – 5,68	800	5,88 – 5,68	850
220 – 240 min	12,50		12,14	
	5,26 – 5,06	1000	5,26 – 5,06	1000
240 – 260 min	14,91		14,90	
	4,89 – 4,69	1200	4,89 – 4,68	1200
260 – 280 min	15,05		15,10	
	4,81 – 4,61	1300	4,81 – 4,61	1350
280 – 300 min	15,31		15,37	
	4,80 – 4,60	1300	4,80 – 4,60	1350

Preglednica L: Pufrske kapaciete uporabljenih medijev za simulacijo nizkega profila. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlP-med medijem A (McIlP 5,2 (8×)) in medijem B (McIlP 6,6 (15×)).

Medij	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ Δ pH]
McIlvainov pufer 5,2 (8×)-A	4,76
A:B=3:1	4,78
McIlvainov pufer 6,6 (15×)-B	5,31
McIlvainov pufer 4,8 (2×)	15,71

4.2.3 Srednji profil

V preglednicah LI – LIII so predstavljene vse meritve pufrske kapacitete v sklopu simulacije srednjega profila.

Preglednica LI: Predstavljeni so rezultati pufrske kapacitete merjeni pri krajših časovnih intervalih, med simulacijo srednjega profila. Poleg vrednosti pufrske kapacitete, je podano območje spremembe pH in skupen volumen dodane 0,1 M HCl v vsakem časovnem intervalu.

Paralelka Čas [min]	PKS/a		Paralelka Čas [min]	PKS/a (nadaljevanje preglednice)		
	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ Δ pH]			Pufrska kapaciteta [mmol/l/ Δ pH]		
	Območje pH	Volumen dodane 0,1 M HCl [μ l]				
0 – 5 min	45,67		110 – 120 min	6,25		
	1,74 – 1,59	720		6,98 – 6,77	260	
5 – 10 min	2,65		120 – 130 min	6,44		
	5,88 – 5,68	50		7,22 – 7,02	260	
10 – 15 min	3,98		130 – 140 min	6,51		
	5,95 – 5,75	80		7,39 – 7,19	260	
15 – 20 min	4,52		140 – 160 min	6,88		
	6,00 – 5,80	90		7,50 – 7,30	550	
20 – 40 min	4,68		160 – 180 min	6,91		
	6,05 – 5,85	380		7,54 – 7,34	560	
40 – 60 min	4,99		180 – 190 min	8,68		
	6,06 – 5,86	400		7,34 – 7,14	350	
60 – 65 min	5,10		190 – 200 min	11,01		
	6,08 – 5,88	100		6,75 – 6,55	450	
65 – 70 min	5,65		200 – 210 min	13,55		
	6,10 – 5,90	120		6,42 – 6,22	550	
70 – 75 min	5,98		210 – 220 min	14,47		
	6,20 – 6,00	120		6,31 – 6,11	600	
75 – 80 min	6,42		220 – 240 min	15,41		
	6,43 – 6,22	130		6,45 – 6,25	1200	
80 – 90 min	6,50		240 – 260 min	15,60		
	6,46 – 6,26	130		6,52 – 6,32	1300	
90 – 110 min	6,39		260 – 280 min	16,71		
	6,71 – 6,51	480		6,50 – 6,30	1300	

Preglednica LII: Predstavljeni so rezultati merjenja pufrske kapacitete pri daljših časovnih intervalih, med simulacijo srednjega profila. Poleg vrednosti pufrske kapacitete, je podano območje spremembe pH in skupen volumen dodane 0,1 M HCl v vsakem časovnem intervalu.

Paralelka Čas [min]	PKS/b		PKS/c	
	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	Območje pH Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]	Območje pH Volumen dodane 0,1 M HCl [μl]
0 – 10 min	28,12 5,68 – 5,48	1200	28,31 5,67 – 5,47	1150
10 – 20 min	3,99 5,98 – 5,79	160	3,40 5,99 – 5,79	150
20 – 40 min	4,46 6,05 – 5,85	360	4,73 6,04 – 5,84	380
40 – 60 min	4,50 6,07 – 5,88	380	5,23 6,06 – 5,85	400
60 – 80 min	5,52 6,23 – 6,03	440	5,35 6,22 – 6,02	440
80 – 100 min	6,16 6,55 – 6,35	500	6,06 6,55 – 6,35	480
100 – 120 min	6,22 6,91 – 6,71	500	6,11 6,93 – 6,73	480
120 – 140 min	6,59 7,32 – 7,11	560	6,730 7,33 – 7,13	560
140 – 160 min	6,93 7,51 – 7,31	560	7,05 7,51 – 7,31	560
160 – 180 min	7,13 7,55 – 7,35	560	7,22 7,56 – 7,36	570
180 – 200 min	11,69 6,75 – 6,55	950	12,00 6,76 – 6,56	1000
200 – 220 min	13,71 6,46 – 6,26	1150	13,99 6,44 – 6,24	1150
220 – 240 min	14,76 6,44 – 6,24	1200	14,55 6,45 – 6,25	1200
240 – 260 min	15,12 6,53 – 6,33	1250	15,53 6,54 – 6,34	1250
260 – 280 min	15,79 6,50 – 6,30	1250	15,97 6,49 – 6,29	1350

Preglednica LIII: Pufrske kapaciete uporabljenih medijev za simulacijo srednjega profila. Medij A:B predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlvain medijem A (McIl 6,0 (10×)) in medijem B (McIl 7,0 (10×)), medij C:D predstavlja volumsko razmerje med obema izbranimi McIlvain medijem C (McIl 8,1 (7×)) in medijem D (McIl 7,6 (10×)).

Medij	Pufrska kapaciteta [mmol/l/ΔpH]
McIlvainov pufer 6,0 (10×)-A	4,99
A:B=1:3	6,84
McIlvainov pufer 7,0 (10×)-B	6,26
C:D=1:5	5,86
McIlvainov pufer 8,1 (7×)-C	4,31
McIlvainov pufer 7,6 (10×)-D	6,39
McIlvainov pufer 5,2 (2×)	16,85
McIlvainov pufer 6,5 (4×)	16,48

4.3 Umeritvene premice

Medije, ki smo uporabili za simulacijo profilov smo zmešali z 0,1 M NaOH v razmerju 1:1 in mešanici pripravili umeritvene premice, ki so predstavljene v preglednici LIV.

Preglednica LIV: Enačbe umeritvenih premic mešanic, ki smo jih pripravili iz spodaj navedenih medijev in 0,1 M NaOH, v razmerju 1:1. V enačbi znak y predstavlja izmerjeno absorbanco, znak x pa koncentracijo Na-DF [mg/l].

Mediji redčeni z 0,1 M NaOH v razmerju 1:1	Enačba umeritvene premice	Pearsonov koeficient korelacije R ²
McIlvainov pufer 6,4 (15×)	y=0,0321x-0,0062	0,9996
McIlvainov pufer 8,1 (7×)	y=0,0318x+0,0053	0,9995
McIlvainov pufer 6,5 (4×)	y=0,0316x+0,0127	0,9995
30 mM HCl	y=0,0321x+0,0044	0,9998
McIlvainov pufer 5,2 (8×)	y=0,0322x+0,0044	0,9998
McIlvainov pufer 6,6 (15×)	y=0,0323x-0,0113	0,9997
McIlvainov pufer 4,8 (2×)	y=0,0317x+0,0055	0,9994
50 mM HCl	y=0,0315x-0,0004	0,9999
McIlvainov pufer 6,0 (10×)	y=0,0319x-0,0048	0,9999
McIlvainov pufer 7,6 (10×)	y=0,0323x-0,0021	0,9999

4.4 Poskusi sproščanja

4.4.1 Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo visok profil pH

V preglednici LV so rezultati sproščanja tablet H, v preglednici LVI pa rezultati tablet HL, med simulacijo visokega profila.

Preglednica LV: Rezultati poskusa sproščanja tablet z oznako H, med simulacijo visokega profila. V preglednici je prikazan % sproščene ZU pri določeni časovni točki, podano je povprečje paralelk ter RSD. Poleg poimenovanja paralelk so navedene označke pretočnega sistema, na katerem je bil poskus izvajen.

Čas [min]	% sproščene ZU				RSD [%]
	VsH/a	VsH/b	VsH/c	Povprečje	
	G2	G1	G2		
0	0	0	0	0	0
20	0,114	0,114	0,114	0,114	0,144
40	0,539	0,547	0,536	0,541	1,000
60	2,206	2,306	2,244	2,252	2,260
80	4,995	5,250	5,069	5,105	2,570
100	8,357	8,767	8,400	8,508	2,647
120	11,955	12,594	11,976	12,175	2,984
140	15,687	17,078	15,933	16,233	4,574
160	20,178	22,182	20,556	20,972	5,077
180	24,469	26,595	24,850	25,305	4,482
200	28,194	30,151	28,578	28,974	3,578
220	31,499	33,405	31,853	32,252	3,143
240	34,461	36,263	34,795	35,173	2,726
260	37,142	38,828	37,410	37,793	2,397
280	39,642	41,237	39,872	40,250	2,141
300	41,967	43,543	42,200	42,570	1,998
320	43,982	45,553	44,212	44,582	1,904
340	45,663	47,200	45,752	46,205	1,867
360	47,100	48,616	47,185	47,634	1,789
380	48,228	49,692	48,294	48,738	1,697

Preglednica LVI: Rezultati poskusa sproščanja tablet z oznako HL, med simulacijo visokega profila. V preglednici je prikazan % sproščene ZU pri določeni časovni točki, podano je povprečje paralelk ter RSD. Poleg poimenovanja paralelk so navedene označke pretočnega sistema, na katerem je bil poskus izvajen.

Čas [min]	% sproščene ZU					RSD [%]
	VsHL/a	VsHL/b	VsHL/c	VsHL/d	Povprečje	
	G2	G1	G1	M1		
0	0,000	0,000	0,000	0	0	0
20	0,113	0,113	0,114	0,114	0,114	0,468
40	0,780	0,930	1,763	1,104	1,266	34,714
60	3,192	4,124	4,230	3,958	4,104	3,334
80	7,420	8,785	8,524	8,580	8,630	1,590
100	12,144	13,764	13,236	13,662	13,554	2,065
120	17,583	19,111	18,725	19,112	18,983	1,174
140	24,714	25,963	25,944	25,345	25,750	1,365
160	30,992	32,543	32,321	31,341	32,068	1,996
180	36,138	37,730	37,540	36,386	37,219	1,954
200	40,736	42,288	42,179	40,632	41,700	2,221
220	44,723	46,375	46,237	44,515	45,709	2,268
240	48,632	50,249	50,162	48,073	49,495	2,489
260	52,114	53,738	53,681	51,430	52,950	2,486
280	55,492	57,138	57,184	54,650	56,324	2,574
300	58,531	60,254	60,282	57,693	59,410	2,502
320	61,443	63,157	63,226	61,223	62,535	1,818
340	64,184	65,970	66,066	63,865	65,300	1,905
360	66,613	68,383	68,521	66,256	67,720	1,875
380	68,947	70,829	70,897	68,551	70,092	1,904
400	/	/	/	70,702	/	/
420	/	/	/	72,751	/	/
440	/	/	/	74,675	/	/
460	/	/	/	76,464	/	/
480	/	/	/	78,124	/	/
500	/	/	/	79,685	/	/
520	/	/	/	81,182	/	/
540	/	/	/	82,564	/	/
560	/	/	/	83,928	/	/
580	/	/	/	85,169	/	/
600	/	/	/	86,309	/	/

4.4.2 Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo nizek profil pH

V preglednici LVII so rezultati sproščanja tablet H, v preglednici LVIII pa rezultati tablet HL, med simulacijo nizkega profila.

Preglednica LVII: Rezultati poskusa sproščanja tablet z oznako H, med simulacijo nizkega profila. V preglednici je prikazan % sproščene ZU pri določeni časovni točki, podano je povprečje paralelk ter RSD. Poleg poimenovanja paralelk so navedene oznake pretočnega sistema, na katerem je bil poskus izvajан.

Čas [min]	% sproščene ZU					RSD [%]	
	NsH/a	NsH/b	NsH/c	NsH/d	Povprečje		
	G2	G2	G2	G2			
0	0	0	0	0	0	0	
20	0,067	0,077	0,059	0,075	0,068	12,929	
40	0,239	0,209	0,187	0,232	0,212	12,445	
60	0,469	0,417	0,419	0,458	0,435	6,774	
80	0,737	0,823	0,856	0,986	0,806	7,636	
100	1,375	1,471	1,549	1,677	1,465	5,950	
120	2,483	2,352	2,450	2,559	2,428	2,801	
140	4,033	3,634	3,821	3,849	3,829	5,217	
160	6,097	5,576	5,845	5,883	5,839	4,457	
180	8,770	8,381	8,652	9,128	8,601	2,322	
200	11,912	11,798	11,956	12,029	11,889	0,683	
220	15,213	15,461	15,662	15,514	15,445	1,456	
240	18,714	19,344	18,899	19,083	18,986	1,706	
260	22,326	22,793	22,910	22,678	22,676	1,362	
280	25,248	25,995	26,025	25,585	25,756	1,710	
300	26,660	27,389	27,535	26,938	27,194	1,724	
320	27,457	28,144	28,418	27,835	28,006	1,768	
340	28,025	28,649	28,957	28,370	28,544	1,664	
360	28,524	29,079	29,517	28,837	29,040	1,713	
380	28,987	29,485	30,151	29,271	29,541	1,977	
400	29,627	29,891	30,648	29,687	30,055	1,762	

Preglednica LVIII: Rezultati poskusa sproščanja tablet z oznako HL, med simulacijo nizkega profila. V preglednici je prikazan % sproščene ZU pri določeni časovni točki, podano je povprečje paralelk ter RSD. Poleg poimenovanja paralelk so navedene oznake pretočnega sistema, na katerem je bil poskus izvajан.

Čas [min]	% sproščene ZU					RSD [%]	
	NsHL/a	NsHL/b	NsHL/c	NsHL/d	Povprečje		
	G2	G1	G1	G1			
0	0	0	0	0	0	0	
20	0,158	0,142	0,159	0,104	0,141	18,502	
40	0,440	0,418	0,443	0,339	0,410	11,831	
60	0,736	0,706	0,740	0,628	0,703	7,389	
80	1,900	1,477	1,911	1,735	1,756	11,540	
100	2,987	2,457	3,004	2,810	2,815	9,018	
120	4,051	3,501	4,074	3,806	3,858	6,921	
140	5,422	4,798	5,452	5,281	5,238	5,779	
160	7,810	7,223	7,854	8,182	7,767	5,140	
180	11,683	11,500	12,105	13,061	12,087	5,765	
200	16,819	16,575	17,596	18,795	17,446	5,727	
220	22,998	22,675	24,014	25,063	23,687	4,560	
240	29,060	28,952	30,354	31,314	29,920	3,766	
260	35,252	35,564	36,768	37,886	36,368	3,314	
280	42,042	41,252	41,963	42,406	41,916	1,151	
300	44,284	43,698	44,066	44,482	44,132	0,761	
320	45,888	45,457	45,566	46,038	45,737	0,594	
340	47,229	46,716	46,796	47,406	47,037	0,709	
360	48,288	47,747	47,846	48,600	48,120	0,825	
380	49,343	48,688	48,781	49,811	49,156	1,066	
400	49,750	49,588	49,673	50,985	49,999	1,321	
420	/	/	/	52,202	/	/	
440	/	/	/	53,750	/	/	
460	/	/	/	54,926	/	/	
480	/	/	/	56,125	/	/	
500	/	/	/	57,177	/	/	
520	/	/	/	58,393	/	/	
540	/	/	/	59,624	/	/	
560	/	/	/	60,723	/	/	
580	/	/	/	61,636	/	/	
600	/	/	/	62,566	/	/	

4.4.3 Sproščanje v zaporedju medijev, ki simulirajo srednji profil pH

V preglednici LIX so rezultati sproščanja tablet H, v preglednici LX pa rezultati tablet HL, med simulacijo srednjega profila.

Preglednica LIX: Rezultati poskusa sproščanja tablet z oznako H, med simulacijo srednjega profila. V preglednici je prikazan % sproščene ZU pri določeni časovni točki, podano je povprečje paralelk ter RSD. Poleg poimenovanja paralelk so navedene označke pretočnega sistema, na katerem je bil poskus izvajан.

Čas [min]	% sproščene ZU								RSD [%]
	SsH/a G2	SsH/b G1	SsH/c G2	SsH/d G1	SsH/e G2	SsH/f G2	SsH/g G2	Povprečje	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0,116	0,084	0,099	0,083	0,080	0,075	0,113	0,088	19,398
40	0,278	0,247	0,266	0,214	0,198	0,199	0,213	0,206	4,094
60	0,495	0,471	0,511	0,436	0,370	0,380	0,376	0,390	7,883
80	0,723	0,800	0,821	0,686	0,557	0,576	0,567	0,597	10,056
100	0,978	1,115	1,162	1,072	0,894	0,964	0,946	0,969	7,708
120	1,475	1,746	1,845	1,938	1,535	1,660	1,533	1,667	11,425
140	1,855	2,897	3,325	3,737	2,554	3,063	3,002	3,089	15,805
160	2,522	4,589	5,000	5,428	3,808	4,573	4,438	4,562	14,625
180	3,730	6,484	6,798	7,124	5,230	6,253	6,070	6,169	12,598
200	5,704	8,847	9,002	9,420	7,268	8,495	7,858	8,260	11,157
220	8,357	12,180	11,763	12,457	10,237	11,593	10,686	11,243	8,771
240	11,655	16,437	15,007	16,250	13,172	15,056	14,088	14,641	9,014
260	15,726	20,965	18,999	20,833	16,614	18,838	17,641	18,482	9,805
280	19,817	25,768	22,704	25,136	21,198	22,967	21,193	22,623	8,274
300	23,307	29,365	26,507	29,310	24,473	26,721	24,821	26,332	8,423
320	26,211	32,174	29,413	32,324	27,717	29,374	27,422	29,209	7,694
340	28,304	34,638	31,610	34,560	29,904	31,265	29,260	31,247	7,558
360	30,289	36,907	33,704	36,167	31,604	32,724	31,041	32,884	6,987
380	32,276	38,838	36,020	37,838	33,371	34,215	32,085	34,377	7,179
400	34,330	40,718	38,376	39,646	35,116	35,803	33,066	35,908	7,658
420	36,112	43,223	40,757	41,505	37,014	37,543	33,574	37,409	8,683

Preglednica LX: Rezultati poskusa sproščanja tablet z oznako HL, med simulacijo srednjega profila. V preglednici je prikazan % sproščene ZU pri določeni časovni točki, podano je povprečje paralelk ter RSD. Poleg poimenovanja paralelk so navedene označke pretočnega sistema, na katerem je bil poskus izvajан.

Čas [min]	% sproščene ZU					RSD [%]
	SsHL/a G2	SsHL/b G1	SsHL/c G1	SsHL/d G2	Povprečje	
0	0	0	0	0	0	0
20	0,148	0,120	0,153	0,118	0,130	15,202
40	0,441	0,375	0,443	0,369	0,396	10,417
60	0,817	0,697	0,800	0,679	0,725	8,973
80	1,225	1,117	1,186	1,093	1,132	4,261
100	1,741	1,649	1,594	1,617	1,620	1,720
120	3,294	2,950	3,125	2,897	2,990	3,988
140	5,833	5,755	5,200	5,659	5,538	5,358
160	8,200	8,562	8,172	8,423	8,386	2,359
180	10,674	11,410	11,339	11,227	11,325	0,813
200	14,688	15,136	15,338	14,897	15,123	1,461
220	20,144	20,463	20,562	20,143	20,390	1,075
240	26,737	26,088	26,513	25,682	26,094	1,592
260	33,335	33,014	33,160	32,502	32,892	1,050
280	40,913	39,986	40,214	39,368	39,856	1,099
300	46,881	45,867	45,924	45,160	45,651	0,932
320	52,241	50,905	51,004	50,121	50,677	0,955
340	56,631	55,743	55,914	54,886	55,515	0,993
360	60,062	59,200	59,341	58,291	58,944	0,967
380	63,361	62,628	62,703	61,665	62,332	0,929
400	66,680	65,994	66,008	64,980	65,661	0,898
420	69,877	69,299	69,271	68,235	68,935	0,880
440	/	/	/	71,089	/	/
460	/	/	/	73,819	/	/
480	/	/	/	76,387	/	/
500	/	/	/	78,767	/	/
520	/	/	/	80,872	/	/
540	/	/	/	82,907	/	/
560	/	/	/	84,864	/	/
580	/	/	/	86,484	/	/
600	/	/	/	88,128	/	/

5 Razprava

Sproščanje ZU iz trdnih FO je predpogoj, da pride do absorpcije ZU, zato je pomembno, da se sprosti čim več ZU iz FO in se v čim večji meri absorbira ter posledično pride do ustreznega učinka. Vplive na učinkovito sproščanje moramo dobro preučiti, da lahko pripravimo ustrezno sestavo tablet, ki bo omogočala sproščanje v čim večjem obsegu, v ustremem času glede na vrsto sproščanja FO in na ustremem mestu v GIT. Vpliv na sproščanje imajo lahko tudi časi zadrževanja v medijih, ki simulirajo GIT, zato je pomembno, da se pri *in vitro* sproščanjih, čim bolj približamo *in vivo* časom zadrževanja. V sklopu magistrske naloge smo simulirali tri profile pH, ki so se med seboj razlikovali v časih zadrževanja v območju GIT in v vrednostih pH.

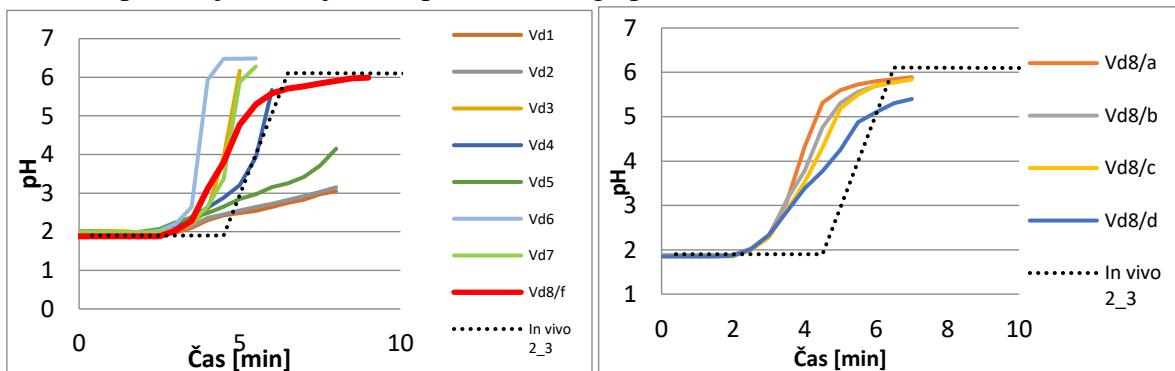
Profil pH je predstavljal vrednosti pH skozi celotni GIT – želodec, TČ in kolon. Simulacijo profila pH smo razdelili na tri dele; simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ, simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ in simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona. Po uspešni simulaciji posameznega dela profila pH, smo uporabljenim medijem izmerili pufrsko kapaciteto. V primeru, da pufrska kapaciteta ni bila primerna, smo poskušali dobiti ustrezno pufrsko kapaciteto z drugačno redčitvijo McIlP. Celotni profil pH smo sestavili iz simuliranih posameznih delov profila. Z uporabljenimi McIlP lahko dobro simuliramo vrednosti pH in pufrsko kapaciteto skozi celotni GIT. McIlP lahko pripravimo različnih vrednosti pH (od približno 2,0 do približno 8,0), kar nam omogoča spremeljanje vpliva pH na sproščanje skozi širše območje pH.

5.1 Simulacija profilov pH

5.1.1 Visok profil pH

5.1.1.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ pri visokem profilu

Kot začetni medij smo pri visokem profilu vedno uporabili 20 mM HCl [24]. pH ob prehodu v dvanajstnik smo regulirali z izbiro koncentracije ali časom dovajanja Na₃PO₄. Pričeli smo 100 s dovajati 90 mM Na₃PO₄ in ugotovili, da je to prešibka koncentracija za ustrezno simulacijo hitrega dviga pH, saj je bil pH po 8 minutnem dovajanju le 3,05. Želeli smo doseči pH približno 6,0. Zato smo v naslednjih poskusih nadaljevali z dovajanjem višjih koncentracij (100, 110 in 120 mM Na₃PO₄). Če smo raztopino Na₃PO₄ dovajali dlje časa, smo imeli bolj strmo krivuljo našaščanja pH in obratno, če smo Na₃PO₄ dovajali krajši čas. Pri dovajanju neustrezne koncentracije ali časa Na₃PO₄ smo poskus predhodno zaključili, kadar je pH presegel ciljni pH 6,0 (**Vd3, Vd6, Vd4** in **Vd7**) ali pa je bil naklon krivulje prenizek in le-ta ne bi simuliral hitrega prehoda iz želodca v dvanajstnik (**Vd1, Vd2, Vd5**). Slika 10 prikazuje krivulje vseh poskusov dviga pH.



Slika 10: Grafičen prikaz simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik z vsemi uporabljenimi raztopinami Na₃PO₄. Rdeča črta prikazuje uspešen poskus. S črtkano črto je predstavljen in vivo profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].

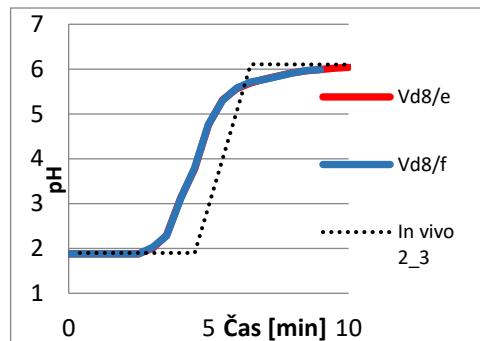
Slika 11: Grafičen prikaz slabe ponovljivosti paralelnih poskusov Vd8. S črtkano črto je predstavljen in vivo profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].

Pri primerjavi paralelk **Vd8/a** in **Vd8/b**, kjer smo dovajali enako koncentracijo in čas raztopine Na₃PO₄ smo opazili, da je slaba ponovljivost rezultatov. Za merjenje vrednosti pH pri poskusih **Vd8/a** in **Vd8/b** smo uporabili enak pH meter, z enakimi elektrodami. Zato smo naslednji dve paralelki izvedli na pH metru, s čisto novo elektrodo, z namenom, da izključimo možnost vpliva različnih elektrod na rezultate. Tudi paralelka **Vd8/c** in **Vd8/d** se nista ujemali med seboj, niti z rezultati iz **Vd8/a** ali **Vd8/b**, zato lahko izključimo možnost vpliva elektrode pH metra na slabo ponovljivost paralelk, ker se ob menjavi elektrode pH

metra ne izboljša ponovljivost. Slaba ponovljivost paralelk je prikazana na sliki 11. Pri paralelki **Vd8/d** smo uporabili sveže pripravljene raztopine in tudi tukaj je bila ponovljivost glede na ostale paralelke slaba. Predvidevali smo, da je lahko razlog v variabilnosti rezultatov, zaradi različne količine dovajane raztopine Na_3PO_4 , kljub temu, da smo vedno dovajali enako količino in enak čas. Kot je bilo že uporabljen pri predhodni diplomi [26] smo znotraj cevke, ki dovaja svež medij v delovno čašo namestili dodatno ozko cevko. Pomembno je bilo, da se dovodna cevka ni dotikala raztopine Na_3PO_4 , ampak samo dodatna cevka. V primeru, da bi se medija dotikala tudi dovodna cevka bi lahko ponovno bili na cevki ostanki raztopine Na_3PO_4 in bi prišlo do sprememb pH medija, ki smo ga zamenjali z Na_3PO_4 . Ob koncu dovajanja Na_3PO_4 smo odstranili dodatno cevko s pomočjo pincete. Kot je razvidno iz slike 12, ki prikazuje rezultate paralelk **Vd8/e** in **Vd8/f**, smo z uporabo dodatne cevke uspešno rešili problem slabe ponovljivosti med poskusi. Glede na uspešen rezultat pri **Vd8/e** in **Vd8/f** smo dodatno cevko uporabili pri vseh nadalnjih poskusih simulacije profilov in pri procesih sproščanja.

Pri uporabi dodatne cevke je bilo pomembno, da se je dodatna cevka odstranila iz dovodne cevke čim hitreje in da smo čimprej začeli z dovajanjem naslednjega medija. Včasih se je pojavil tudi zračni mehurček v dodatni cevki, kar je pomenilo, da se je v delovno čašo prečrpala manjša količina Na_3PO_4 . Pri poskusih, kjer se je pojavil zračni mehurček smo poskuse predhodno zaključili. Za vsak simuliran profil pH smo imeli drugačno koncentracijo Na_3PO_4 , zato smo imeli za vsak profil pH svojo dodatno cevko, da ni prišlo do kontaminacije z neustrezno koncentracijo Na_3PO_4 in posledično sprememb v profilu pH.

Takoj po simulaciji hitrega dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik smo želeli imeti pH približno 6,0, ki pa naraste na približno 6,4 do 60. minute, od začetka poskusa, kar pa smo tudi dosegli pri poskusu **Vd8/f**, z dovajanjem 120 mM Na_3PO_4 91 s, sledilo pa mu je dovajanje McIIIP 6,4 (15×). Ob simulaciji prehoda v dvanajstnik je bil pH 5,97, pri 60. minuti od začetka poskusa pa smo dosegli pH 6,47, kar potrjuje, da smo izbrali pravilno koncentracijo in čas dovajanja 120 mM Na_3PO_4 in pufer za simulacijo proksimalnega dela TČ; McIIIP 6,4 (15×).



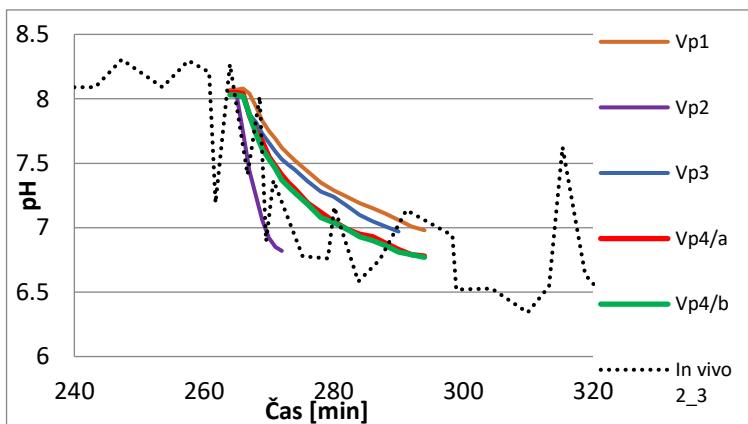
Slika 12: Simulacija dviga iz želodca v dvanajstnik, z uporabljeni dodatno cevko. Predstavljena sta ustrezna poskusa simulacije. S črtkano črto je predstavljen in vivo profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].

5.1.1.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

Ustrezno kombinacijo dveh McIIIP (McIIIP 6,4 (15×) in McIIIP 8,1 (15×)) smo povzeli po predhodni magistrski nalogi [24], spremenili smo le čas dovajanja, da je ustrezal izbranem *in vivo* profilu. Pri meritvi pufrske kapacitete smo spremenili redčitev McIIIP 8,1, saj je bila prvotna (15×) neustrezna in smo jo spremenili na 7× redčitev. McIIIP 8,1 (7×) smo uporabili pri simulaciji distalnega dela TČ.

5.1.1.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

Pri predhodnih magistrskih nalogah [24,26] so uporabili za padec v kolon 0,85 % H₃PO₄, s katero so dosegli zelo hiter padec pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona. V sklopu moje magistrske naloge smo želeli pri vseh simuliranih profilih doseči bolj postopen padec pH z mediji, ki imajo hkrati ustrezne pufrske kapacitete za simulacijo območja kolona. Pri poskusu **Vp1** smo za simulacijo padca pH pri prehodu iz TČ v kolon uporabili McIIIP 6,8 (15×) in po 20 min začeli z dovajanjem McIIIP 6,4 (15×). Kot je razvidno iz slike 13 smo z izbrano kombinacijo McIIIP dobili krivuljo, ki bi morala za boljšo simulacijo doseči bolj strm padec. Pri poskusu **Vp2** smo z uporabo McIIIP 4,8 (2×) dosegli prestrmo krivuljo. Uspešen je bil poskus **Vp4/a,b**, kjer je bil uporabljen McIIIP 6,5 (4×).

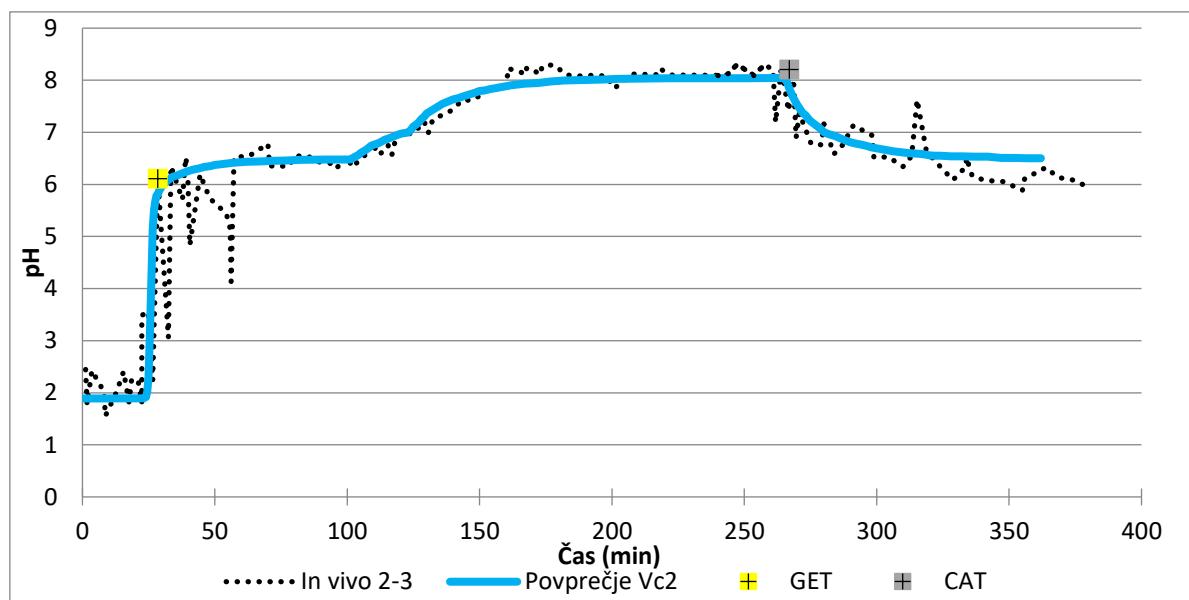


Slika 13: Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona. Rdeči in zeleni krivulji nakazujeta ustrezni paralelni poskusa Vp4. S črtkano črto je predstavljen *in vivo* profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].

5.1.1.4 Simulacija celotnega visokega profila

Za uspešno simulacijo celotnega profila želimo poleg ustreznih vrednosti pH, simulirati tudi ustrezne čase prehoda v območje GIT (čas prehoda iz želodca v dvanaestnik ter prehod v kolon), ki smo jih dosegli z različnimi časi dovajanja ustreznih medijev za simulacijo pri poskusih simulacije celotnega profila. Pomembno je, da imamo čas prehoda iz želodca v dvanaestnik in čas prehoda v kolon čim bližji *in vivo* času prehoda, podanemu v literaturi, kjer so navedeni podatki o časih prehoda [27]. Čas prehoda iz želodca v dvanaestnik je bil

pri 30. minut, ki smo ga v našem profilu tudi ustrezeno dosegli. Čas prehoda v kolon je bil naveden pri 267. min od začetka poskusa (ko se nahajamo v območju želodca). Zaradi lažje izvedbe čas simulacije prehoda v kolon prilagodimo in dosežemo pri 265. min. Pri poskusu **Vc1** nismo dosegli ustreznih časov prehoda, zato smo čase dovajanja medijev spremenili in uspešno simulirali pri poskusu **Vc2** in ga uspešno ponovili pri treh paralelkah. Simuliran celotni visok profil je predstavljen na sliki 14, na kateri je prikazan tudi *in vivo* individualni profil, povzet po literaturi [22].

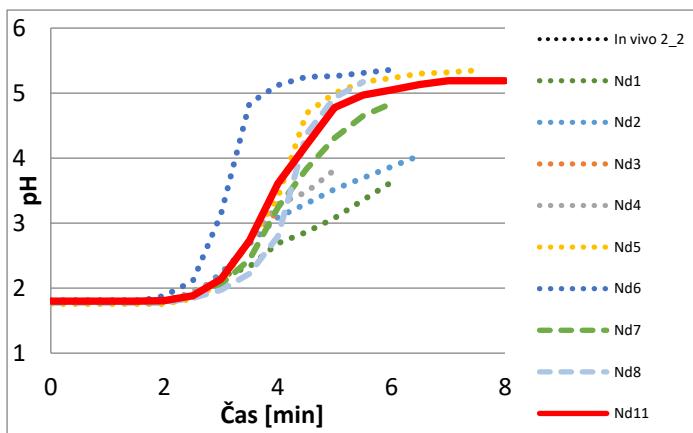


Slika 14: Primerjava *in vitro* simuliranega visokega profila pH (modra krivulja) z individualnim *in vivo* profилom pH (črna krivulja), ki je bil povzet po literaturi [22]. Oznaka GET predstavlja čas izpraznitve želodca, CAT pa čas prihoda v cekum, obe oznaki se nanašata na individualni *in vivo* profil [22].

5.1.2 Nizek profil pH

5.1.2.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ pri nizkem profilu

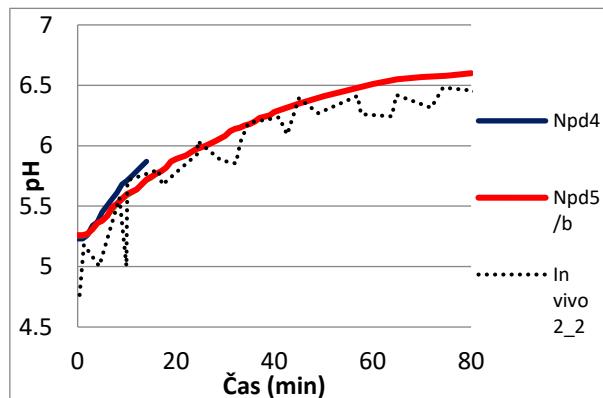
Območje želodca smo simulirali s 30 mM HCl, kot je bilo že izvedeno v predhodni magistrski nalogi [24]. Z ustrezeno koncentracijo in ustreznim časom dovajanja Na₃PO₄ smo želeli po simulaciji prehoda iz želodca v dvanajstniku doseči vrednosti pH med 5,1 in 5,3. Pri poskusih simulacije hitrega dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik smo uporabili najprej 170 mM (**Nd1-6**) in 150 mM Na₃PO₄ (**Nd7 in Nd8**). Z njuno uporabo nismo simulirali ustrezeno hitrega dviga pH. V nadaljnjih poskusih smo uporabili 160 mM Na₃PO₄, ustrezen čas dovajanja – 100 s smo dosegli pri poskusu **Nd11**, s katerim smo dosegli pH 5,18. Poleg neuspelih poskusov je na sliki 15 predstavljen tudi ustrezen poskus **Nd11**.



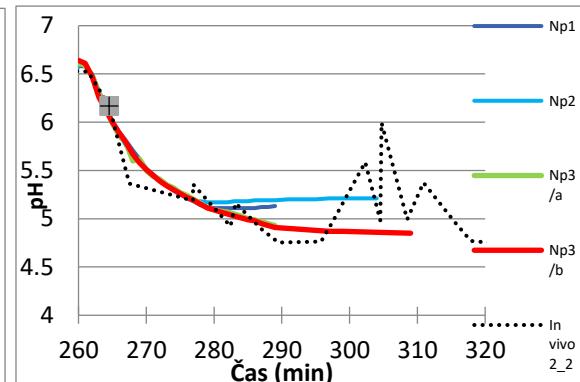
Slika 15: Poskusi simulacije dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik. Barvne črte s pikami prikazujejo poskuse s 170 mM Na_3PO_4 , črtkane črte s 150 mM Na_3PO_4 , neprekinitnega rdeča črta pa prikazuje ustrezen poskus simulacije dviga pH s 160 mM Na_3PO_4 . S črtno črto je predstavljen in vivo profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].

5.1.2.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

Proksimalni del TČ smo simulirali z McIlP 5,2 ($8\times$), distalni del TČ pa z McIlP 6,6 ($15\times$). Za simulacijo dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ smo uporabili kombinacijo dveh McIlP. S poskusom **Npd2** in **Npd3** smo dosegli previsoke vrednosti pH in posledično neustrezno simulacijo (pH bi moral med dovajanjem kombinacije dveh McIlP naraščati od približno 5,3 do 5,8). Enako kombinacijo McIlP, ki sta bila uporabljeni pri simulaciji proksimalnega dela TČ in za simulacijo distalnega dela TČ smo uporabili tudi pri nadalnjih poskusih **Npd4** in **Npd5/a** in **Npd5/b**, razlikovali so se v volumskem razmerju in času dovajanja. S paralelkama **Npd5/a** in **Npd5/b** se še bolj približamo *in vivo* vrednostim pH. Slika 16 prikazuje simulacijo dviga iz proksimalnega v distalni del TČ.



Slika 16: Simulacija dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ. Rdeča krivulja prikazuje ustrezen poskus; **Npd5/b**. S črtno črto je predstavljen in vivo profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].



Slika 17: Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v kolon. Rdeči in zeleni krivulji nakazujeta ustrejni paralelni poskusi **Np3/a,b**. S črtno črto je predstavljen in vivo profil pH, ki smo ga želeli simulirati [22].

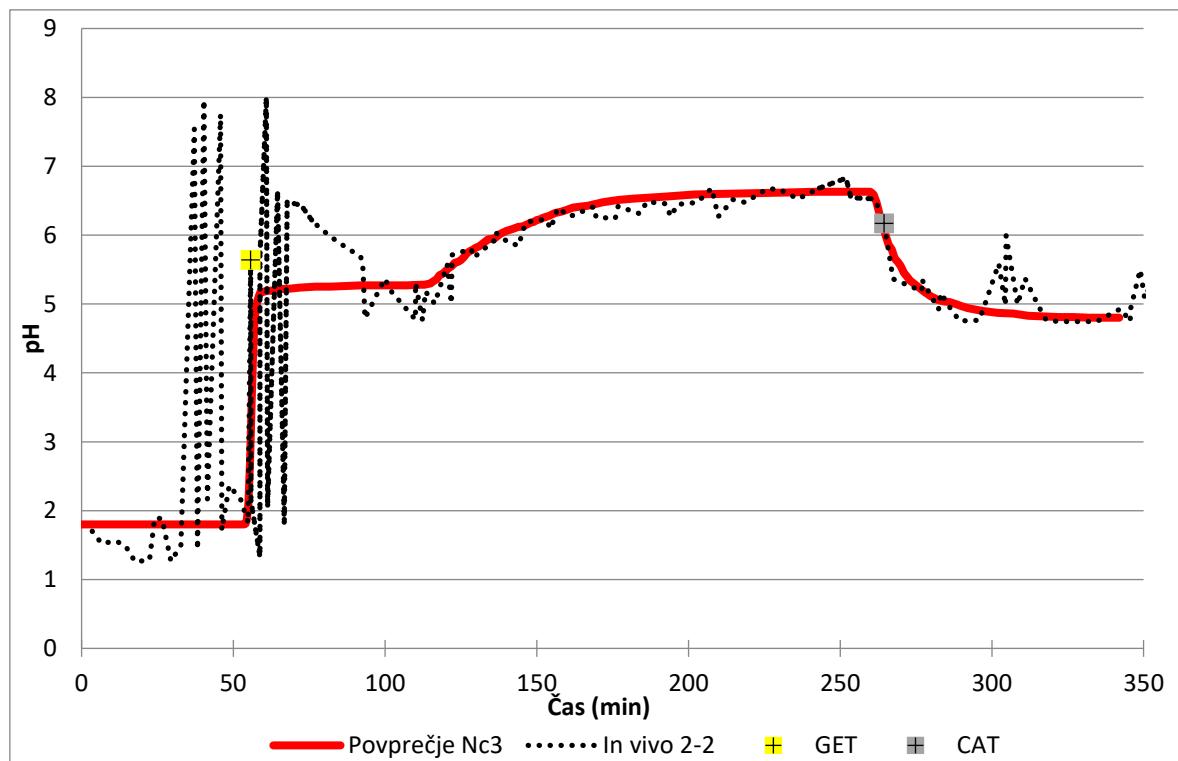
5.1.2.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

Iz poskusa **Vp2** (neustrezen poskus v sklopu simulacije padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona, pri visokem profilu) smo predvideli, da bi bil McIlP 4,8 ($2\times$)

ustrezen za simulacijo hitrega padca iz distalnega dela TČ v kolon, saj so bile vrednosti pH pri simulaciji podobne *in vivo* vrednostim pH v profilu. Zato smo ta pufer uporabili pri simulaciji padca pH pri prehodu iz distalnega dela TČ v kolon, pri nizkem profilu. Pri poskusih **Np1** in **Np2** smo po končanem dovajanju McIlP 4,8 (2×) nadaljevali z zaporednim dovajanjem McIlP 5,2 (2×), s katerim smo želeli doseči konstantno vrednost pH v kolonu. McIlP 4,8 (2×) in McIlP 5,2 (2×) smo dovajali v obeh poskusih različno dolgo, ker pa smo želeli imeti samo en pufer za simulacijo padca pH, smo pri nadaljnjih poskusih uporabili le McIlP 4,8 (2×), saj smo se z njegovo uporabo uspešneje približali *in vivo* vrednostim profila pH. Poskusi simulacije padca pH pri prehodu v kolon so predstavljeni na sliki 17.

5.1.2.4 Simulacija celotnega nizkega profila

Iz študije [27] dobimo povprečni podatek o času prehoda v dvanajstnik – 60. minuta, ki ga v našem profilu pH tudi dosežemo. Čas prehoda v kolon je pri 265. minutu [27], v simuliranem profilu pH smo prehod v kolon simulirali pri 261. minutu. Pri poskusih **Nc1** in **Nc2** smo medije simulirali pri različnih časih zadrževanja v GIT, ki pa niso ustrezali, pri poskušu **Nc3** smo vse izbrane medije simulirali ustrezni čas ter poskus **Nc3** uspešno simulirali v treh paralelkah. Simulacija celotnega nizkega profila je prikazana na sliki 18.



Slika 18: Primerjava in vitro simuliranega nizkega profila pH (rdeča krivulja) z in vivo profilom pH (črna krivulja), ki je bil povzet po literaturi[22]. Oznaka GET predstavlja čas izpraznitve želodca, CAT pa čas prihoda v cekum, obe oznaki se nanašata na individualni in vivo profil [22].

5.1.3 Srednji profil pH

5.1.3.1 Simulacija dviga pH pri prehodu iz želodca v dvanajstnik ter simulacija pH proksimalnega dela TČ

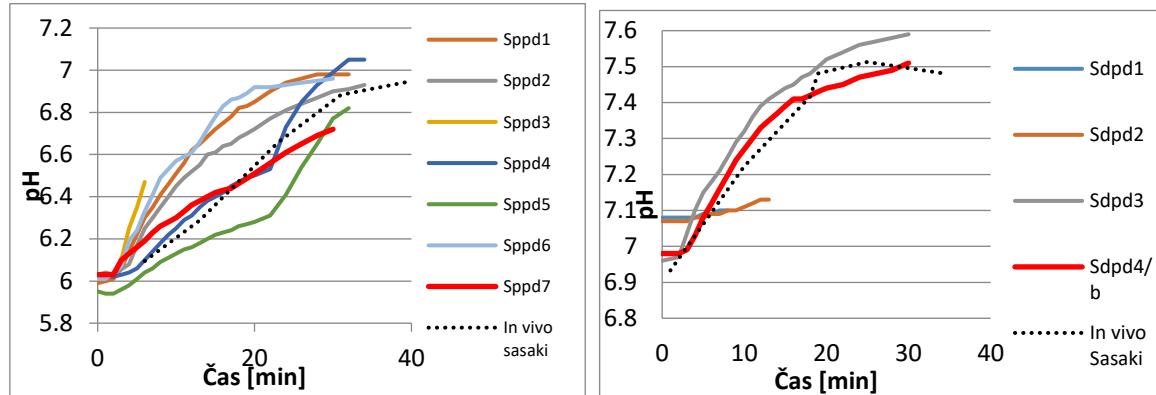
pH v želodcu smo želeli imeti približno 1,6, zato smo uporabili 50 mM HCl, ker ustreza želenemu pH [24]. V predhodni diplomski nalogi [24] je bila za simulacijo dviga iz želodca v dvanajstnik (iz pH približno 1,6 na 6,0) uporabljena 280 mM raztopina Na₃PO₄ in smo jo uporabili tudi mi. V dvanajstniku smo želeli imeti pH približno 6,0. Pri simulaciji našega profila pH smo začeli z dovajanjem 280 mM Na₃PO₄, 100 s, nato pa nadaljevali z McIIIP 6,0 (10×) in dosegli pH ob prehodu v dvanajstnik 5,88.

5.1.3.2 Simulacija dviga pH pri prehodu iz proksimalnega dela v distalni del TČ

V območju TČ se pojavita dva platoja dviga pH. Za simulacijo tega predela smo želeli uporabiti čim manj pufrov. Tukaj je bilo kar nekaj težav, saj pH v proksimalnem delu TČ najprej narašča in doseže prvi plato po približno 40. minut (od začetka naraščanja pH v območju proksimalnega dela TČ), sledi postopno naraščanje do drugega platoja, zato se je bilo težje približati *in vivo* vrednostim. Potrebne so kombinacije ustreznih McIIIP, saj z njimi lahko ustrezeno simuliramo postopen dvig pH vzdolž TČ, kot smo to že simulirali pri visokem in nizkem profilu pH. Simulacijo dviga pH iz proksimalnega dela v distalni del TČ smo uspešno simulirali z zaporednim dovajanjem medijev McIIIP:

- kombinacijo dveh pufrov (v volumskem razmerju A:B=1:3, oznaka A predstavlja McIIIP 6,0 (10×), oznaka B pa McIIIP 7,0 (10×)), ki simulirata dvig pH do prvega platoja pri poskusu **Sppd7**, želeli smo doseči dvig pH približno iz vrednosti 6,0 na 6,5.
- sledi dovajanje pufra McIIIP 7,0 (10×), ki simulira območje med prvim in drugim platojem, z njegovo uporabo smo želeli doseči dvig pH približno iz 6,5 na 7,0.
- kombinacija drugih dveh pufrov (v volumskem razmerju C:D=1:5, oznaka C predstavlja McIIIP 8,1 (7×), oznaka D pa 7,6 (10×), ki simulirata dvig pH do drugega platoja pri poskusu **Sdpd4**, želeli smo doseči dvig pH približno iz vrednosti 7,0 na 7,4.

Poskusi simulacije dviga pH do prvega platoja so prikazani na sliki 19, dviga pH do drugega platoja pa na sliki 20. Na slikah 19 in 20 so prikazani tudi neuspešni poskusi z neustreznim pH McIIIP in časom dovajanja McIIIP.

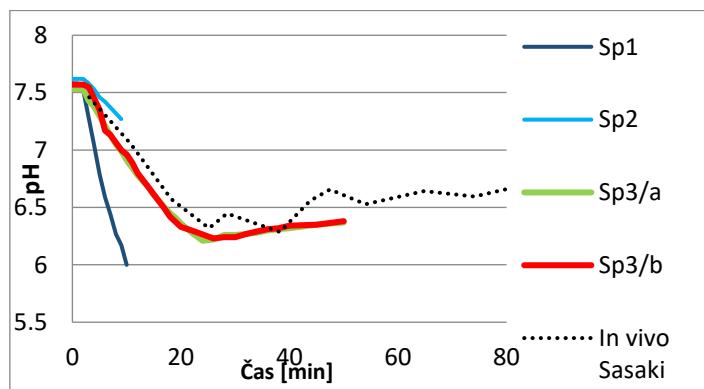


Slika 19: Simulacija dviga pH do prvega platoja. Rdeča krivulja predstavlja ustrezni poskus. Črtkana črta predstavlja in vivo individualni profil [23].

Slika 20: Simulacija dviga pH do drugega platoja. Rdeča krivulja predstavlja ustrezni poskus. Črtkana črta predstavlja in vivo individualni profil [23].

5.1.3.3 Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona

Skozi vse simulacije smo si želeli uporabiti čim manjše število uporabljenih medijev in tako enostavno simulirati profil pH. Kljub poskusu simulacije samo z enim McIIIP in sicer; pri poskusu **Sp1** McIIIP 4,8 ($2\times$) in pri poskusu **Sp2** smo uporabili McIIIP 5,5 ($4\times$), smo padec uspešneje simulirali z dvema različnima McIIIP, ki smo jih dovajali zaporedno – najprej McIIIP 5,2 ($2\times$), nato še McIIIP 6,5 ($4\times$), pri paralelkah **Sp3/a** in **Sp3/b**. Simulacije padca pH pri prehodu iz distalnega dela TČ v proksimalni del kolona so predstavljene na sliki 21.

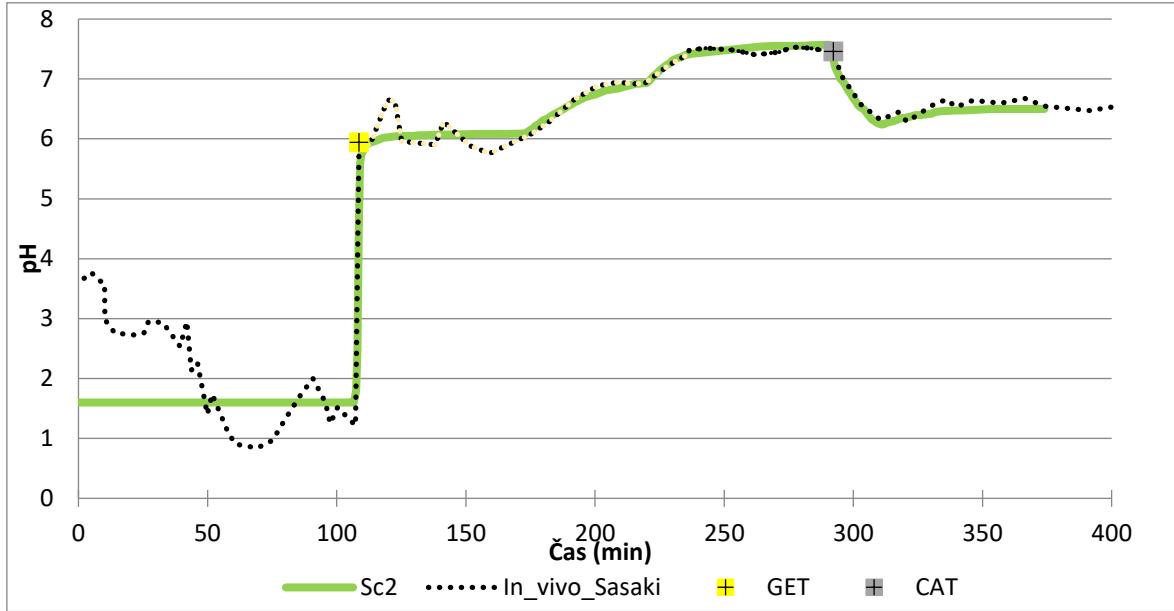


Slika 21: Simulacija padca pH pri prehodu iz TČ v proksimalni del kolona. S črtkano črto je označen in vivo profil pH, ki smo ga želeli doseči [23]. Rdeči in zeleni krivulji nakazujeta ustreznii paralelni poskusi Sp3/a,b.

5.1.3.4 Simulacija celotnega srednjega profila

Študija [23] navaja podatek o prehodu iz želodca v dvanajstnik pri 110. minuti, iz grafa lahko odčitamo, da smo dosegli prehod iz želodca v dvanajstnik pri 111. minuti. Podatek o času

prehoda v kolon je v študiji naveden pri 290. minutu [23], ki smo ga v našem profilu uspešno dosegli. Pri poskusu **Sc1** si nismo izbrali ustrezne čase dovajanja, so pa pripomogli k pravilni izbiri pri poskusu **Sc2**. Simuliran celotni srednji profil je prikazan na sliki 22.



Slika 22: Primerjava in vitro simuliranega srednjega profila pH (zelena krivulja) z in vivo profilom pH (črna krivulja), ki je bil povzet po literaturi [23]. Oznaka GET predstavlja čas izpraznitve želodca, CAT pa čas prihoda v cekum, obe oznaki se nanašata na individualni in vivo profil [23].

5.2 Pufrska kapaciteta

Iz predhodne magistrske naloge [24] smo povzeli fiziološke vrednosti pufrskih kapacitet v GIT, ki so bile pridobljene iz literature ter redčitve ustreznih McIIIP, uporabljenih pri simulaciji profilov pH. Pufrske kapacitete pripravljenih McIIIP smo preverili in po potrebi ustrezno prilagodili s spremembjo redčitve McIIIP. Pri vseh simuliranih profilih pH so bile ciljne vrednosti pufrske kapacitete v tankem črevesu med 4 in 8 mmol/l/ Δ pH, v kolonu pa okoli 15 mmol/l/ Δ pH [24].

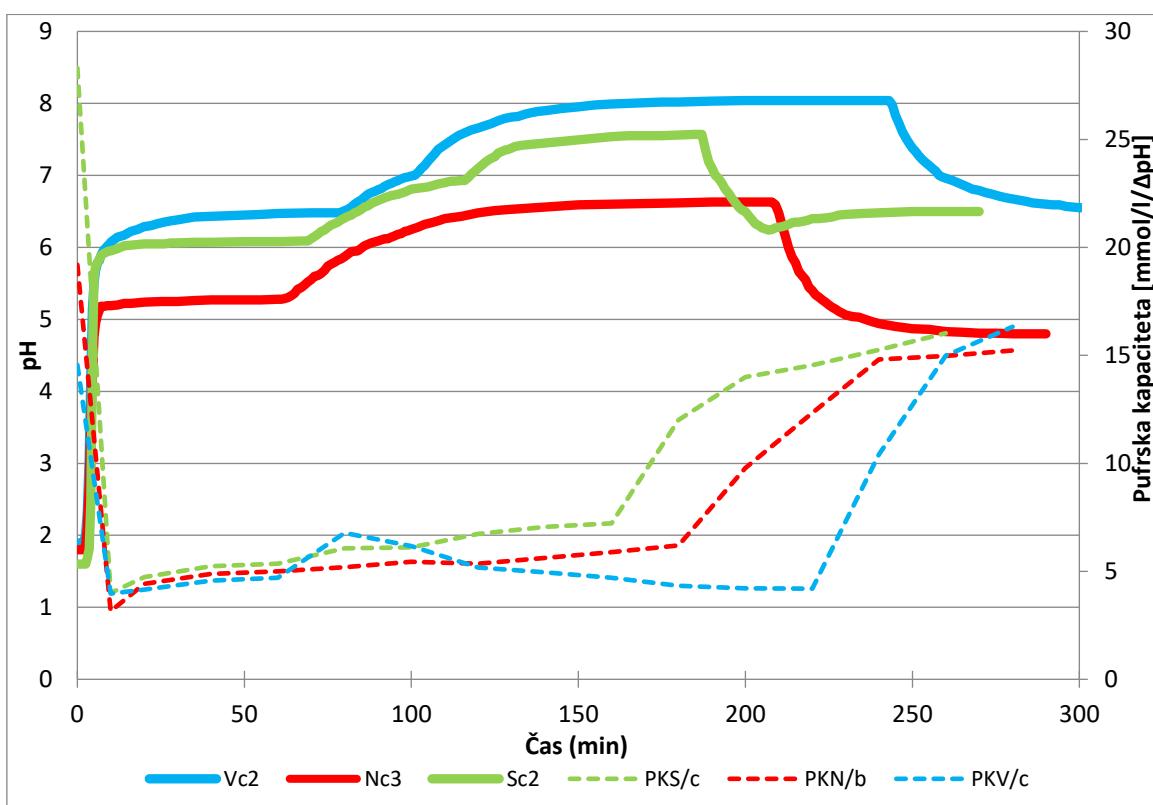
Po ustrezni simulaciji celotnega visokega profila pH smo želeli preveriti še ustreznost pufrske kapacitete skozi simulacijo celotnega profila in smo ugotovili, da McIIIP 8,1 ($15\times$) nima ustrezne pufrske kapacitete. McIIIP 8,1 ($15\times$) je bil uporabljen pri visokem profilu, za simulacijo dviga pH iz proksimalnega in distalnega dela TČ (uporabljen v kombinaciji z McIIIP 6,4 ($15\times$)) ter za območje distalnega dela TČ (uporabljen kot samostojni pufer). Vrednost pufrske kapacitete v območju distalnega dela TČ pri simulaciji visokega profila in samega pufra – McIIIP 8,1 ($15\times$) je bila približno 2 mmol/l/ Δ pH, ki pa ne ustreza zahtevam pufrske kapacitete v TČ (med 4 in 8 mmol/l/ Δ pH).

S spremembjo redčitve McIIIP 8,1 smo želeli spremeniti pufrsko kapaciteto. Neredčen McIIIP 8,1 smo redčili $10\times$ in smo izmerili pufrsko kapaciteto 3,375 mmol/l/ Δ pH, kar še vedno ni

ustrezalo, zato smo neredčen McIIIP 8,1 redčili 7×, ki je imel pufrsko kapaciteto 4,310 mmol/l/ΔpH in je ustrezala želenemu območju kapacitet. Zato smo v nadalnjih poskusih simulacije celotnega profila (**Vc2/a**, **Vc2/b**, **Vc2/c**) uporabili McIIIP 8,1 (7×), namesto McIIIP 8,1 (15×).

Neustreznost pufrske kapacitete McIIIP smo odkrili šele pri simulaciji celotnega visokega profila, zato smo potek dela v izogib neustreznosti pufrske kapacitete McIIIP pri nadalnjih simulacijah profilov pH izvedli malo drugače. Po uspešni simulaciji določenega dela profila smo izmerili pufrsko kapaciteto posameznim ustreznim medijem McIIIP in spremljali njegovo ustreznost pufrske kapacitete ter imeli tako zagotovljeno ustreznost pufrske kapacitete odvzetim vzorcem skozi celotni profil pH.

Pri vseh treh končnih simulacijah profilov pH vrednosti pufrske kapacitete ustrezajo. Vsi prvi vzorci (časovni interval 0 – 5 min ali 0 – 10 min) imajo zelo visoko pufrsko kapaciteto, zaradi prisotnosti raztopine HCl in Na₃PO₄, kljub temu, da so bili odvzeti ob začetku dovajanja McIIIP, s katerim smo pričeli simulirati proksimalni del TČ. Na sliki 23 so prikazani vsi trije profili pH, skupaj z grafično predstavitevijo vrednosti pufrskih kapacitet.



Slika 23: Grafični prikaz simulacije vseh profilov pH (primarna os) in pufrskih kapacitet (sekundarna os, črtkane krivulje). Pufrske kapacitete profila pH so označene z enako barvo kot simuliran profil pH (visok profil-zelena, nizek profil-rdeča, srednji profil-modra).

5.3 Poskusi sproščanja

Za izvajanje sproščanja smo uporabili dve vrsti ogrodnih tablet; H in HL. Obe vrsti vsebujejo enako količino Na-DF, različno količino HPMC in magnezijevega stearata, tabletam HL je dodana laktoza monohidrat. Tablete H in HL smo želeli primerjati pri poskusih sproščanja, ki so bila izvedena v zaporedju medijev, s katerimi smo simulirali vse tri profile pH.

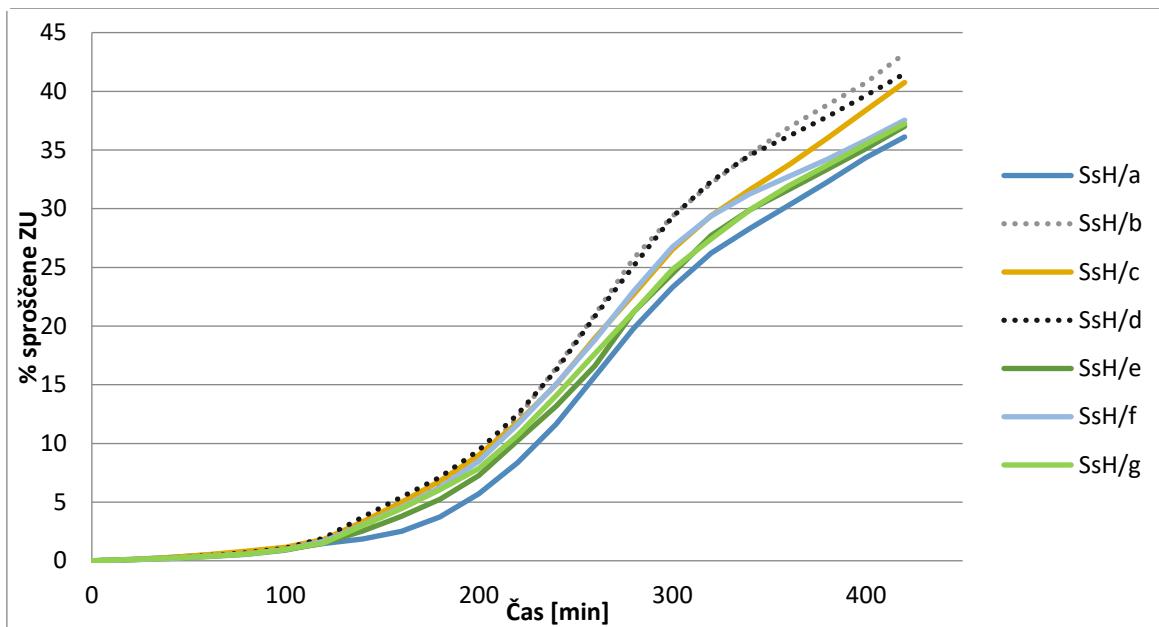
5.3.1 Ponovljivost poskusov sproščanja

Pri poskusih sproščanja tablet z oznako H in HL med simulacijo visokega profila in nizkega profila ter pri tabletah HL med simulacijo srednjega profila, je bila dobra ponovljivost med paralelkami. Do odstopanja RSD je prišlo le v začetnih točkah, kjer pa je nizek % sproščenega Na-DF in se je lahko zaradi tega pojavila napaka merjenja na spektrofotometru. Izvajanje poskusov sproščanja v srednjem profilu s tabletami H je povzročalo kar nekaj težav, saj je bila slaba ponovljivost med paralelkami, zato smo izvedli 7 paralelk (poskusi z oznako SsH). Tablete uporabljeni pri paralelki **SsH/a, SsH/f** (obe paralelki izvedeni na pretočnem sistemu G2) in **SsH/d** (paralelka izvedena na pretočnem sistemu G1) so med procesom sproščanja lebdele. Najdlje časa je lebdela pri paralelki **SsH/a**, ki pa tudi najbolj odstopa od paralelk izvedenih na pretočnem sistemu G2. Pri tabletah uporabljenih pri paralelkah **SsH/b** (izvedena je bila na pretočnem sistemu G1), **SsH/c, SsH/e** in **SsH/g** (izvedene so bile na pretočnem sistemu G2) ni bilo lebdenja.

Pri paralelkah **SsH/b** in **SsH/d** (izvedeni sta bili na pretočnem sistemu G1) je tableto nenavadno obračalo tekom mešanja, večinoma se je pomikala proti sredini delovne čaše, včasih se je za trenutek tudi nalepila na odvodno cevko. Magnet v delovni čaši se ni ustrezno gibal, tableta se je povzdigovala. Zaradi tega vzroka smo pri naslednjih poskusih zamenjali magnetno mešalo in uspešno rešili problem mešanja.

Največje variabilnosti pri poskusu SsH so bile med paralelkami, ki so bile izvedene na različnih pretočnih sistemih. Pri paralelkah sproščanja SsH, ki so bile izvedene na pretočnem sistemu z oznako G1, je dosežen večji % sproščene ZU. Pri **SsH/b** in **SsH/d** (pretočni sistem G1) smo proti koncu sproščanja ugotovili, da je bil volumen medija v delovni časi manjši od 40 ml. Pred naslednjo paralelko smo preverili še pretok na pretočni črpalki, ki pa je bil pri obeh paralelkah ustrezен. Manjši volumen medija povzroči večjo koncentracijo ZU v delovni čaši in posledično tudi izračunan % sproščene ZU (definirano v enačbi 3 in 5).

Rezultati paralelk poskusa **SsH** so predstavljeni na sliki 24.



Slika 24: Grafičen prikaz % sproščenega Na-DF pri paralelkah poskusa SsH, sproščanje tablet H, pri srednjem profilu. Krivulji paralelk SsH/b in SsH/d sta označena s pikami, saj sta bili izvedeni na pretočnem sistemu G1, ostale paralelke pa na G2.

5.3.2 Primerjava sproščanj med profili

Pojavile so se razlike v % sproščene ZU med tabletami serije H in serije HL ter med vsemi tremi simuliranimi profili pH. Pri sproščanju v zaporedju medijev, ki simulirajo vse tri profile pH je razvidno, da v času, ko v sistem dovajamo HCl (pH~1,6 – 1,9), ki simulira območje želodca, pri tej vrednosti pH do sproščanja Na-DF sploh ne pride. Vpliv na sproščanje Na-DF ima tudi čas zadrževanja v želodcu, daljši čas kot se zadržuje tableta v želodcu, povzroči, da se bo Na-DF začel sproščati z zamikom, po prehodu v območje z višjim pH-v območje TČ, kar je vidno na grafu (slika 25, zelena krivulja-Sc2), kjer je prikazana odvisnost pH od časa in se kaže kot zamik krivulje. Pri simulaciji *in vitro* visokega profila smo simulirali prehod tablete iz želodca v dvanajstnik pri približno 30. minuti, pri srednjem profilu približno po 110. minuti, pri nizkem profilu približno po 60. minuti. Kar pomeni, da se pri srednjem profilu v TČ Na-DF začne najkasneje sproščati, saj se tableta zadržuje najdlje v želodcu, pri visokem profilu pa najhitreje, saj se tableta zadržuje najkrajši čas v želodcu.

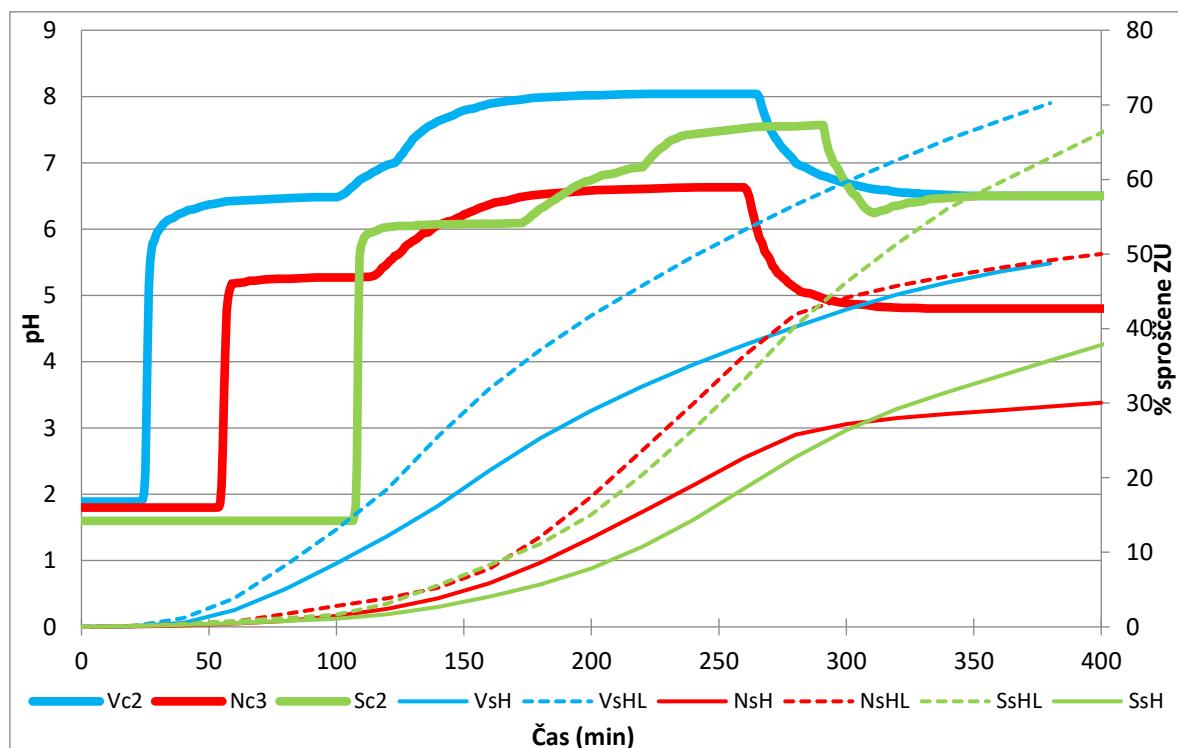
V območju TČ pride do največje spremembe v % sproščenega Na-DF pri vseh treh profilih, saj je pH od pKa Na-DF (pKa diklofenaka znaša 3,8 [20]) večji za 2 enoti ali več, razen pri nizkem profilu, kjer je v proksimalnem delu TČ pH okoli 5,2. Zato se v območju TČ sprosti najmanj Na-DF pri nizkem profilu. Simulacija prehoda skozi TČ je najdaljša pri visokem

profilu, najkrajša pa pri srednjem profilu, hkrati pa so pH vrednosti v območju TČ najvišje pri visokem profilu, kar privede do višjega % sproščenega Na-DF pri visokem profilu glede na sproščanje v ostalih profilih.

V območju proksimalnega dela kolona prihaja do upada hitrosti sproščanja Na-DF iz tablet. Do največjega zmanjšanja hitrosti sproščanja pride pri nizkem profilu, saj je pri tem profilu vrednost pH v območju proksimalnega dela kolona 4,8. Ta vrednost pH je blizu vrednosti pKa diklofenaka – 3,8 [20], zato je pri pH 4,8 del Na-DF v neionizirani obliki (10%) in je sproščanje posledično upočasnjeno. Znižanje hitrosti sproščanja se opazi tudi na grafu, kot prelomnica krivulje. Pri visokem in srednjem profilu prav tako pride do zmanjšanja hitrosti sproščanja v območju kolona, kljub temu, da je Na-DF v celoti v ionizirani obliki. Do zmanjšanja hitrosti sproščanja pri visokem in srednjem profilu pride zaradi velike količine že sproščenega Na-DF, vendar počasneje kot pri nizkem profilu.

Pri procesih sproščanja, kjer smo uporabili tablete HL, smo dosegli večji % sproščene ZU, kot pri tabletah H. Vzrok je v sestavi PS (tabletam HL je bilo dodano 39,5 % polnila laktosa monohidrat) in količin PS (tablete H vsebujejo 75% HPMC, tablete HL pa 35%).

Povprečne vrednosti sproščanj tablet H in HL za vse tri simulirane profile pH so prikazane na sliki 25.

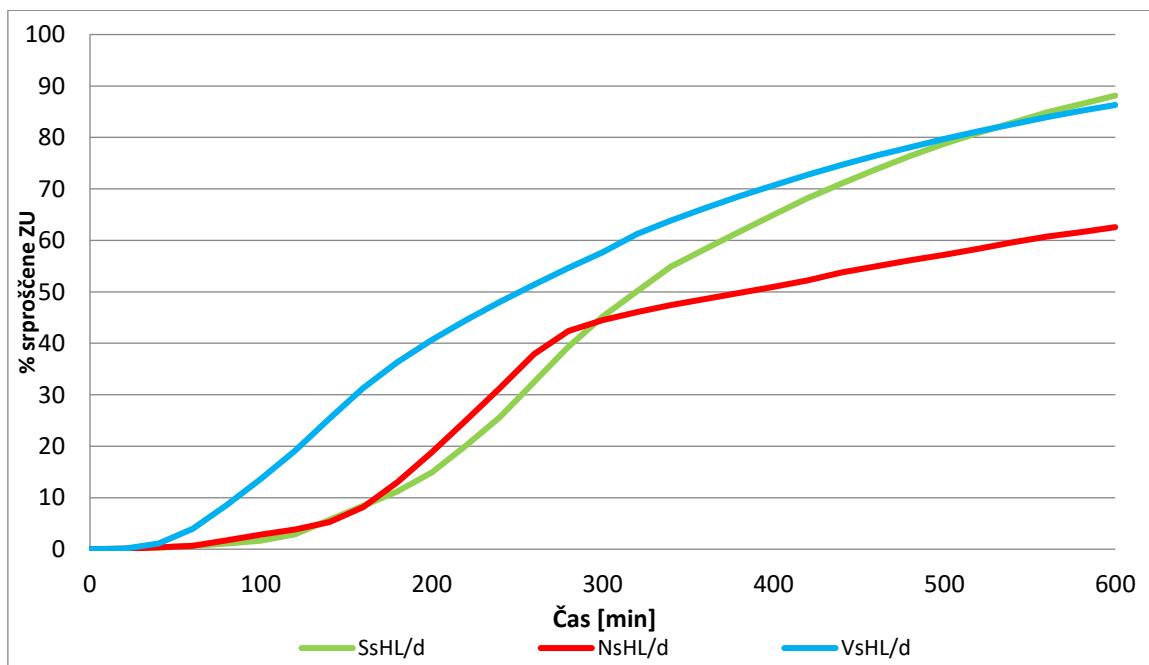


Slika 25: Rezultati povprečnih vrednosti sproščanja Na-DF iz tablet H in HL za vse tri simulirane profile pH. Simulacija visokega profila in sproščanje pri visokem profilu je označeno z modro barvo, pri nizkem profilu z rdečo barvo, pri srednjem profilu z zeleno barvo. Na primarni y osi so navedene vrednosti pH, na sekundarni y osi je naveden % sproščene ZU. Pri % sproščene ZU polna črta predstavlja poskuse s tabletami H, črtkana črta pa s tabletami HL.

Sproščanje Na-DF, ki je trajalo 600 minut:

Za vse tri profile smo na koncu vseh poskusov sproščanj izvedli še sproščanja s tabletami HL, ki so trajala 600 minut, z namenom, da vidimo, kako simulacija daljšega zadrževanja v kolonu vpliva na sproščanje Na-DF. Vse predhodne poskuse sproščanj smo izvajali približno 400 minut, kjer je bil čas simulacije v območju proksimalnega dela kolona približno 140 min. Pri *in vivo* pogojih v tem času še ne pride do izločanja tablete, saj se le-ta pri *in vivo* pogojih lahko zadržuje v kolonu še kar nekaj časa.

Od 400. minute dalje je največja razlika sproščene ZU med dvema zaporednima vzorcema pri srednjem profilu, pri vseh treh profilih pa se razlika z vsakim nadaljnjam vzorcem zmanjšuje. Največje znižanje hitrosti sproščanja Na-DF po 400. minutni je pri nizkem profilu, zaradi znižanja pH, ki je v proksimalnem delu kolona 4,8 in je blizu vrednosti pKa diklofenaka 3,8 [20]. Območje kolona pri visokem in srednjem profilu ima približno enako vrednost pH; 6,5, posledično se je pri obeh profilih, ob koncu poskusa sprostila približno enaka celokupna količina učinkovine. 600-minutno sproščanje smo izvajali le v 1 paralelki, saj smo rezultate do 400. minute (pri 600-minutnem sproščanju) primerjali s sproščanjem pri ostalih paralelkah (pri 400-minutnem sproščanju) za vsak posamezen profil. Vrednosti RSD pri vseh časovnih točkah do 400. minute so primerljive ter ustrezne tudi z dodanim 600 minutnim poskusom. Slika 26 prikazuje rezultate daljšega časa trajanja poskusov sproščanja.



Slika 26: Rezultati 600-minutnega sproščanja tablet HL pri vseh simuliranih profilih. Sproščanje pri visokem profilu je prikazano z modro črto, pri nizkem profilu z rdečo črto in pri srednjem profilu z zeleno črto.

6 Sklep

Naš cilj laboratorijskega dela je bil, da *in vitro* uspešno simuliramo profile pH in se čim bližje približamo *in vivo* pH vrednostim tekočin vzdolž GIT. Hkrati smo želeli zagotoviti ustreznost pufrske kapacitete skozi celotni profil. Tekom dela smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- Na pretočnem sistemu smo z uporabo različnih McIIP, ki variirajo v vrednosti pH in redčitvi (posledično tudi v pufrski kapaciteti) uspešno simulirali tri različne profile pH, ki so bili podobni *in vivo* individualnim profilom pH. Časi simulacij prehoda iz želodca v dvanajstnik in čas prehoda iz TČ v kolon so bili podobni časom pri *in vivo* profilih.
- Zagotovili smo ustrezne pufrske kapacitete glede na *in vivo* vrednosti in se tako še bolj približali fiziološkim pogojem.
- Kadar v sistem dovajamo raztopino Na_3PO_4 , zaradi boljše ponovljivosti simulacije dviga pH iz želodca v dvanajstnik uporabimo znotraj dovodne cevke dodatno cevko.
- Pri simulaciji padca pH iz TČ v kolon smo namesto dovajanja 0,85 % H_3PO_4 uporabili McIIP in simulirali postopen padec pH. Hkrati smo zagotovili tudi ustreznost pufrske kapacitete v kolonu, približno 15 mmol/l/ ΔpH .
- Sproščanje smo izvajali za dve vrsti tablet; H in HL, ki sta se razlikovali v količini HPMC, tabletam HL je bila dodana laktosa monohidrat. Pri tabletah vrste HL smo dosegli višje vrednosti sproščenega Na-DF kot pri H, ki vsebujejo višji delež ogrodnega polimera HPMC.
- Pri procesih sproščanja so se pojavile razlike v % sproščenega Na-DF med tremi različnimi profili pH.
- Pri poskusih sproščanja, kjer se tableta z Na-DF zadržuje dlje časa v želodcu, se bo Na-DF po prehodu v medij z višjo pH vrednostjo začel sproščati kasneje kot po prehodu v medij z višjo pH vrednostjo pri krajšem zadrževanju v kislem mediju.
- Največ Na-DF se sprosti v območju TČ, saj so tukaj simulirane najvišje vrednosti pH.
- Pri simulaciji prehoda iz TČ v kolon pride do znižanja hitrosti sproščanja zaradi padca pH. Pri nižji vrednosti pH v kolonu se na krivulji, ki prikazuje % sproščene ZU v odvisnosti od časa, bolj izrazi upad hitrosti sproščanja kot pri višji simulirani vrednosti pH kolona.

7 Viri

- [1] European Pharmacopeia, 7th Edition, Council of Europe: Strasbourg, France; 2011: 430-434
- [2] Witzleb R, Mullertz A, Kanikanti V-R, Hamann H-J, Kleinebudde P: Dissolution of solid lipid extrudates in biorelevant media. International Journal of Pharmaceutics 2012; 422: 116-124.
- [3] Bogataj M, Mrhar A, Kerec Kos M, Trontelj J, Vovk T, Pišlar M: Biofarmacija s farmakokinetiko, učbenik za študente 4. letnika Enovitega magistrskega študija farmacije in študente 1. letnika Magistrskega študija industrijske farmacije (elektronska knjiga). Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2013: 14-16.
- [4] Nitin B, Adhikrao Y, Sachin M, Rohan K, Ashok H, Sachin S, Sameer N: A review on development of biorelevant dissolution medium. Journal of Drug delivery & Therapeutics 2014; 4: 140-148.
- [5] Nagpal M, Rakha P, Dhingra G, Gupta S: Evaluation of various dissolution media for predicting the *in vivo* performance of BCS class II drug. International Journal of Chemical Sciences 2010; 8: 1063-1070.
- [6] Gowthamarajan K, Singh S: Dissolution testing for poorly soluble drugs: A continuing perspective. Dissolution Technologies 2010; 17: 24-32
- [7] Bertocchi P, Antoniella E, Valvo L, Alimonti S, Memoli A: Diclofenac sodium multisource prolonged release tablets – a comparative study on the dissolution profiles. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2005; 37: 679-685.
- [8] Dressman J, Berardi R, Dermentoglou L, Russell T, Schmaltz S, Barnett J: Upper gastrointestinal pH in young, healthy men and women. Pharmaceutical Research 1990; 7: 756-761.
- [9] Efentakis M, Dressman J: Gastric juice as a dissolution medium: surface tension and pH. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 1998; 23: 97-102.
- [10] Klein S.: The use of biorelevant dissolution media to forecast the *in vivo* performance of a drug. The AAPS Journal 2010; 12: 397-406.
- [11] Stippler E, Kopp S, Dressman J: Comparison of US Pharmacopeia simulated intestinal fluid TS (without pancreatin) and phosphate standard buffer pH 6.8, TS of the international Pharmacopeia with respect to their use in *in vitro* dissolution testing. Dissolution Technologies 2004; 11: 6-10.

- [12] Jantratid E, Maio V, Ronda E, Mattavelli V, Vertzoni M, Dressman J: Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of *in vivo* performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2009; 37: 434-441.
- [13] Galia E, Nicolaides E, Horter D, Lobenberg R, Reppas C, Dressman J.B: Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. Pharmaceutical Research. 1998; 15: 698-705.
- [14] Jantratid E, Janssen N, Reppas C, Dressman J: Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: An update. Pharmaceutical Research 2008; 25: 1663-1675.
- [15] Jantratid E, Dressman J: Biorelevant dissolution media simulating the proximal human gastrointestinal tract: An update. Dissolution Technologies 2009; 16: 21-25.
- [16] Fuchs A, Leigh M, Kloefer B, Dressman J: Advances in the design of fasted state simulating intestinal fluids: FaSSIF-V3. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2015; 94: 229-240.
- [17] Vertzoni M, Dressman J, Butler J, Hempenstall J, Reppas C: Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the *in vivo* dissolution of lipophilic compounds. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2005; 60: 413-417.
- [18] Diclofenac delayed release tablets; <https://www.drugs.com/pro/diclofenac-delayed-release-tablets.html> (dostopano: 05.2017)
- [19] <https://www.caymanchem.com/product/70680>, (dostopano: 11.2017)
- [20] O'Connor K, Corrigan O: Preparation and characterisation of a range of diclofenac salts. International Journal of Pharmaceutics 2001; 226: 163-179.
- [21]<https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=54f9c88fd11b8b402a8b4586&assetKey=AS%3A273725033779217%401442272541882>, (dostopano: 10.2016)
- [22] Koziolek M, Grimm M, Becker D, Iordanov V, Zou H, Shimizu J, Wanke C, Garbacz G, Weitschies W: Investigation of pH and temperature profiles in the GI tract of fasted human subjects using the Intellicap® System. Journal of Pharmaceutical Sciences 2015; 104: 2855-2863.
- [23] Sasaki Y, Hada R, Nakajima H, Fukuda S, Munakata A: Improved localizing method of radiopill in measurement of entire gastrointestinal pH profiles: Colonic luminal pH in normal subjects and patient with Chron's disease. The American Journal of Gastroenterology 1997; 92: 114-118

- [24] Jerman K: *In vitro* pH simulacija individualnih profilov prebavnega trakta na pretočnem sistemu s kroglicami in vpliv na sproščanje natrijevega diklofenakata iz ogrodnih tablet. Magistrska naloga. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko, Ljubljana, 2014.
- [25] Sinko P: Martin's physical pharmacy and pharmaceutical science, 6th Edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2011: 309.
- [26] Gjuranc A: *In vitro* simulacija pH profila in pufrskih kapacitet medijev prebavnega trakta. Magistrska naloga. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko, Ljubljana, 2016.
- [27] Van der Shaar P, Dijksman F, Broekhuizen-de Gast H, Shimizu J, Lelyveld N, Iordanov V, Wanke C, Siersema P. A novel ingestible electronic drug delivery and monitoring device. *Gastrointestinal endoscopy* 2013; 78: 520-528

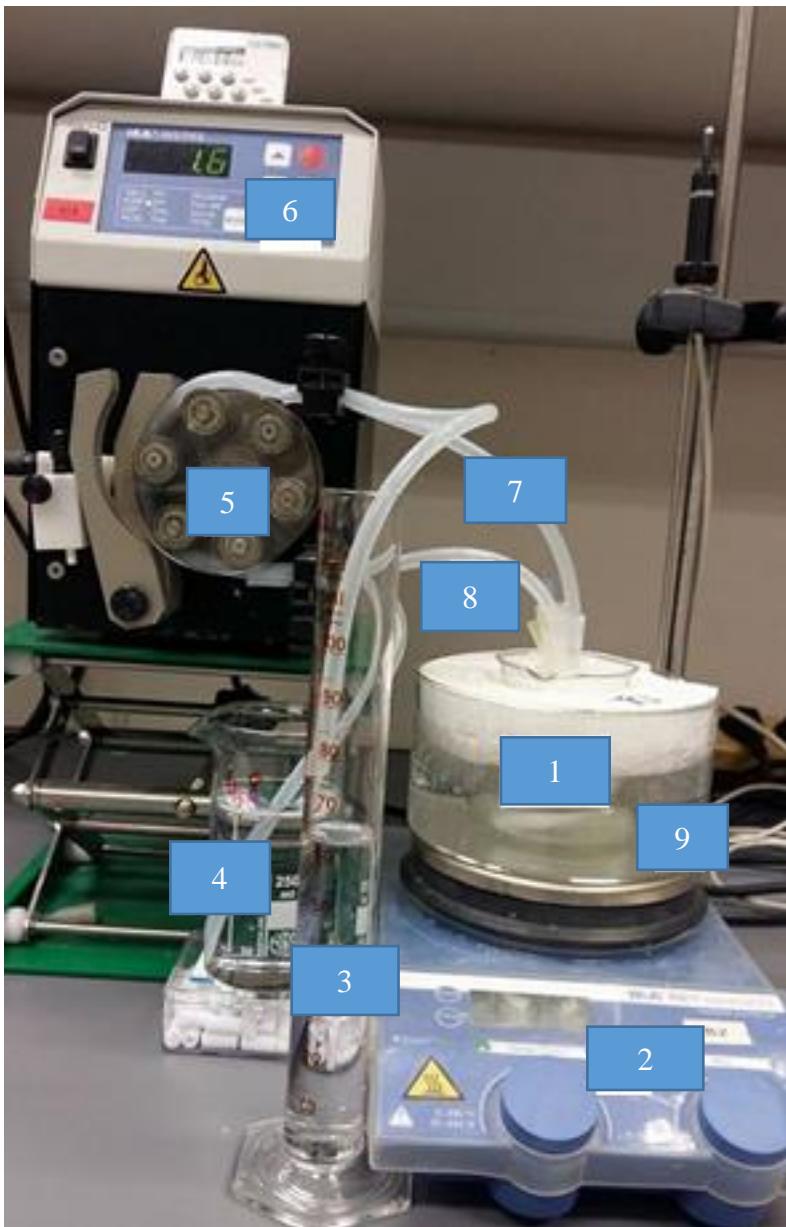
Priloga 1: Preglednica s potrebnimi količinami za pripravo neredčenih McIlP

Za pripravo 20 ml neredčenih McIlP, so v preglednici predstavljeni volumni 0,2 M Na₂HPO₄ in 0,1 M citronske kisline. Poleg količin so navedeni tudi pH pripravljenih McIlP. [21]

pH	0,2 M Na ₂ HPO ₄ [ml]	0,1 M citronska kislina [ml]
2,2	0,40	19,60
2,4	1,24	18,76
2,6	2,18	17,82
2,8	3,17	16,83
3,0	4,11	15,89
3,2	4,94	15,06
3,4	5,70	14,30
3,6	6,44	13,56
3,8	7,10	12,90
4,0	7,71	12,29
4,2	8,28	11,72
4,4	8,82	11,18
4,6	9,35	10,65
4,8	9,86	10,14
5,0	10,30	9,70
5,2	10,72	9,28
5,4	11,15	8,85
5,6	11,60	8,40
5,8	12,09	7,91
6,0	12,63	7,37
6,2	13,22	6,78
6,4	13,85	6,15
6,6	14,55	5,45
6,8	15,45	4,55
7,0	16,47	3,53
7,2	17,39	2,61
7,4	18,17	1,83
7,6	18,73	1,27
7,8	19,15	0,85
8,0	19,45	0,55

Priloga 2: Pretočni sistem z interno oznako G2

Pretočni sistem z interno oznako G2, uporabljen pri simulaciji profilov pH in izvajaju poskusov sproščanja.



Sestava pretočnega sistema:

1 – delovna časa, 2 – magnetno mešalo, 3 – meritni valj, 4 – čaša s čistim medijem, 5 – rotor,
6 – pretočni sistem, 7 – dovodna cevka, 8 – odvodna cevka, 9 – vodna kopel.